

Trennungsgang für lebensmittelfremde und -eigene Stoffe in Lebensmitteln

von

Gertrud Braun

aus

Sangerhausen

1970

Trennungsgang für lebensmittelfremde und -eigene Stoffe in Lebensmitteln

Der Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg

zur

Erlangung des Doktorgrades

vorgelegt

von

Gertrud Braun

aus

Sangerhausen

Als Dissertation genehmigt von der Naturwissenschaftlichen
Fakultät der Universität Erlangen-Nürnberg



Tag der mündlichen Prüfung: 22.7.1970

Dekan	:	Prof. Dr. F. Tichy
Erstberichterstatter	:	Prof. Dr. H. Sucker
Zweitberichterstatter	:	Prof. Dr. O. Dann

Die vorliegende Arbeit wurde von 1965 bis 1969 im Chemischen Untersuchungsamt Rheinhessen in Mainz durchgeführt.

Durch das großzügige Entgegenkommen von Herrn Prof. Dr. O. Dann, Direktor des Instituts für Angewandte Chemie in Erlangen, und Herrn Dr. E. Hieke, Leiter des Chemischen Untersuchungsamtes Rheinhessen in Mainz, war es mir möglich, diese Arbeit an meinem Wohn- und Arbeitsort anzufertigen. Herr Prof. Dr. H. Sucker, o. Professor für Pharmazeutische Technologie der Universität Hamburg, leitete den Gang der Untersuchungen.

Allen diesen Förderern schulde ich aufrichtigen Dank.

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
O. Einleitung	1
I. Theoretischer Teil	3
1. Analytik der einzelnen Inhalts- und Zusatzstoffe	3
1.1 Analytik stark lipophiler Inhalts- und Zusatzstoffe	3
1.1.1 Fette	3
1.1.2 Emulgatoren - Glyceride organischer Hydroxycarbonsäuren	4
1.1.2.1 Analytik der Glyceride als Gesamtmolekül	4
1.1.2.2 Analytik der Verseifungsprodukte	5
1.1.3 Kohlenwasserstoffe - Paraffin	5
1.1.4 Antioxydantien - Butylhydroxytoluol	6
1.1.5 Lipophile Farbstoffe	6
1.2 Analytik niedermolekularer, hydrophiler und schwach lipophiler Inhalts- und Zusatzstoffe	8
1.2.1 Antioxydantien - Gallate, Butylhydroxyanisol, Ascorbylpalmitat	8
1.2.2 Hydrophile Farbstoffe	8
1.2.2.1 Teerfarbstoffe	9
1.2.2.2 Riboflavin	9
1.2.3 Formaldehyd	10
1.2.4 Basen und amphotere Elektrolyte	10
1.2.4.1 Ammoniumionen	10
1.2.4.2 Cholin	10
1.2.4.3 Chinin	11
1.2.4.4 Glutaminsäure	11

1.2.5	Säuren	11
1.2.5.1	Konservierungsstoffe	11
1.2.5.1.1	Qualitative Analytik der Konser=	
	vierungsstoffe	12
1.2.5.1.2	Quantitative Analytik der Konser=	
	vierungsstoffe	12
1.2.5.2	Niedere Fettsäuren (1 C - 3 C)	13
1.2.5.2.1	Qualitative Analytik der niederen	
	Fettsäuren	13
1.2.5.2.2	Quantitative Analytik von Ameisen=	
	säure	13
1.2.5.3	Hydroxycarbonsäuren	14
1.2.5.4	Süßstoffe - Saccharin und	
	Natriumcyclamat	15
1.2.5.5	Anorganische Säuren	15
1.2.6	Neutralstoffe	16
1.2.6.1	Antioxydantien - Butyl=	
	hydroxyanisol	16
1.2.6.2	Konservierungsstoffe	16
1.2.6.3	Aromastoffe - Vanilline	18
1.2.6.4	Süßstoffe - Dulcin	18
1.2.6.5	Emulgatoren - Lecithine und	
	nichtionogene Emulgatoren	19
1.2.6.6	Zucker	20
1.2.6.7	Polyalkohole - Glycerin, Gly=	
	kole, Zuckeralkohole	22
1.3	Analytik hochmolekularer	
	hydrophiler und unlöslicher	
	Inhalts- und Zusatzstoffe	22
1.3.1	Unlösliche pflanzliche Gewebe=	
	bestandteile	22
1.3.2	Eiweißstoffe bzw. Quellstoffe	
	auf Eiweißbasis	23
1.3.3	Quellstoffe auf Kohlenhydratbasis	24

1.3.3.1	Papierchromatographie nach Hydrolyse	24
1.3.3.2	Elektrophorese der Quellstoffe	24
1.3.4	Unlösliche anorganische Bestandteile	25
2.	Auftrennung von Gemischen aus Inhalts- und Zusatzstoffen	26
2.1	Trennversuche aufgrund von Löslichkeiten	26
2.1.1	Lösungsversuche	27
2.1.1.1	Lösungsversuche mit verschiedenen Lösungsmitteln	27
2.1.1.2	Lösungsversuche mit Alginsäure und Carboxymethylcellulose	28
2.1.1.3	Mischbarkeit von Fetten mit absolutem Äthanol	28
2.1.2	Verteilungsversuche	28
2.1.2.1	Verteilungsversuche mit Lösungsmitteln	29
2.1.2.2	Verteilungsversuche mit Stoffen, die sowohl in wäßrigem Aceton als auch in Petroläther löslich sind	30
2.1.2.3	Verteilungsversuche mit Ascorbylpalmitat	31
2.1.2.4	Verteilungsversuche mit Emulgatoren in wasserhaltigen Lösungsmitteln	31
2.1.2.5	Verteilungsversuche mit stark lipophilen Stoffen	32
2.1.2.5.1	Verteilungsversuche mit Butylhydroxytoluol	33
2.1.2.5.2	Verteilungsversuche mit Emulgatoren in wasserfreien Lösungsmitteln	33

2.1.2.5.3	Verteilungsversuche mit Farb=stoffen	34
2.1.2.6	Verteilungsversuche mit Stoff=gemischen und Lebensmitteln	34
2.2	Trennversuche durch Fällung	34
2.2.1	Fällung von Quellstoffen	35
2.3	Trennversuche durch Lösung und Fällung bei Lebensmitteln	35
2.3.1	Trennversuche bei verschiedenar=tigen Lebensmitteln	35
2.3.2	Trennversuche bei Reis	36
2.4	Trennversuche durch Ionenaustausch an der Säule	36
2.4.1	Anionenaustauscherversuche	37
2.4.2	Versuche mit stark saurem Kationen=austauscher	39
2.4.3	Trennversuch einer Stoffmischung	40
2.4.4	Versuche mit einzelnen Stoffen und Stoffgruppen	40
2.4.5	Ermittlung der Austauscherkapa=zitäten	42
2.4.6	Reinheitsprüfung von Anionenaus=tauscherharzen	42
2.4.7	Versuche zur quantitativen Be=stimmung von Stoffen mit Hilfe des Ionenaustauschs in wäßrig-acetoni=scher Lösung	43
2.4.7.1	Bestimmung der Ameisensäure	43
2.4.7.1.1	Versuche zur quantitativen Bestim=mung	44
2.4.7.1.2	Ergebnisse bei Lebensmitteln	45
2.4.7.2	Bestimmung der Sorbinsäure und der Benzoessäure	46
2.4.7.2.1	Versuche mit Sorbinsäure	46
2.4.7.2.2	Ergebnisse bei Lebensmitteln	47
2.4.7.3	Bestimmung von Zucker	48

	Seite
2.5	Trennversuche durch Adsorptionschromatographie 49
2.5.1	Vorversuche mit verschiedenen Sorbentien 49
2.5.2	Versuche mit Butylhydroxytoluol 50
2.5.3	Versuche mit Emulgatoren 51
2.5.4	Versuche mit Farbstoffen, Emulgatoren, Antioxydantien und Lebensmitteln 52
2.5.5	Versuche mit Fruchtbehandlungsstoffen 52
2.5.5.1	Versuche zur Extraktion von Zitrusfruchtschalen und Adsorption von Fruchtbehandlungsstoffen 54
2.5.5.2	Quantitative Bestimmung von Fruchtbehandlungsstoffen 55
2.5.5.2.1	Quantitative Bestimmung von Diphenyl 56
2.5.5.2.2	Quantitative Bestimmung von o-Phenylphenol 57
2.5.5.2.3	Ergebnisse bei Zitrusfrüchten 57
2.6	Analyse von Polysacchariden ohne und mit Quellstoffeigenschaften
2.6.1	Hydrolyse von Polysacchariden mit Quellstoffeigenschaften 58
2.6.2	Ergebnisse bei quellstofffreien und quellstoffhaltigen Lebensmitteln 59
3.	Systematischer Trennungsgang 61
3.1	Aufarbeitung eines Lebensmittels in drei Phasen 61
3.1.1	Vorbereitung des Untersuchungsmaterials 62
3.1.2	Einwaage des Untersuchungsmaterials 62

3.1.3	Auftrennung des Untersuchungs= materials in drei Phasen	63
3.2	Aufarbeitung der wäßrigen Phase	65
3.2.1	Aufarbeitung ohne Ionenaustausch	66
3.2.2	Aufarbeitung mit Ionenaustausch	66
3.2.2.1	Abtrennung der Kationen	66
3.2.2.2	Abtrennung der Anionen	67
3.2.2.3	Neutralstoffe	69
3.3	Aufarbeitung der Fettphase	69
3.3.1	Vorbehandlung des Fettes	70
3.3.2	Auftrennung an der Kieselgelsäule	71
3.3.3	Auftrennung von Farbstoffen an der Aluminiumoxidsäule	72
3.4	Aufarbeitung des unlöslichen Rückstandes	72
3.4.1	Quantitative Bestimmungen	72
3.4.1.1	Milcheiweiß	72
3.4.1.2	Talkum auf Reis	73
3.4.2	Aufarbeitung zu qualitativen Nachweisreaktionen	73
3.4.2.1	Wasserlösliche Bestandteile	73
3.4.2.2	Wasserunlösliche Bestandteile	73
3.5	Spezielle Trennungsgänge	74
3.5.1	Nachweis von Schalenbehandlungs= mitteln bei Zitrusfrüchten	74
3.5.1.1	Vorbereitung des Untersuchungs= materials	74
3.5.1.2	Einwaage des Untersuchungsmate= rials	74
3.5.1.3	Fraktionierung der Fruchtbehand= lungsstoffe an der Kieselgelsäule	75
3.5.2	Nachweis von Oberflächenbehand= lungsmitteln bei Reis	75
3.5.2.1	Ablösung und Auftrennung der Oberflächenbehandlungsmittel in drei Phasen	76

3.5.2.2	Nachweis der einzelnen Oberflächenbehandlungsmittel in den drei Phasen	76
4.	Probeanalysen zur Überprüfung des Trennungsganges	77
4.1	Kontrollanalysen mit vollständigem Trennungsgang	77
4.1.1	Sonnenblumen-Mayonnaise	77
4.1.2	Gesundheitskuchen	77
4.1.3	Doppelrahmfrischkäse	77
4.1.4	Speiseeispulver	78
4.1.5	Kutterhilfsmittel für Brühwürste	78
4.2	Kontrollanalysen mit abgekürztem Trennungsgang	78
4.2.1	Konfitüre	78
4.2.2	Weißer Tauchmasse für Salami	79
4.2.3	Gewürzgurken	79
4.2.4	Fett	79
4.2.5	Backfettmischung	79
4.3	Diskussion der Ergebnisse	80
II.	Experimenteller Teil	81
1.	Analytik der einzelnen Inhalts- und Zusatzstoffe	81
1.1	Analytik stark lipophiler Inhalts- und Zusatzstoffe	81
1.1.1	Fette	81
1.1.1.1	Analytik der Fette	81
1.1.1.1.1	Dünnschichtchromatographie der Triglyceride	81

1.1.1.1.2	Papierchromatographie der Fett=säuren	81
1.1.2	Emulgatoren - Glyceride organi=scher Hydroxycarbonsäuren	82
1.1.2.1	Analytik der Glyceride als Gesamt=molekül	82
1.1.2.2	Analytik der Verseifungsprodukte	83
1.1.3	Kohlenwasserstoffe - Paraffin	84
1.1.3.1	Verseifungsprobe	84
1.1.4	Antioxydantien - Butylhydroxytoluol	84
1.1.4.1	Analytik von Butylhydroxytoluol	84
1.1.5	Lipophile Farbstoffe	84
1.1.5.1	Analytik der als Zusatzstoffe verwendeten Carotinoide und von Curcumin	85
1.1.5.2	Analytik lebensmitteleigener li=pophiler Farbstoffe	85
1.1.5.3	Analytik fettlöslicher Teerfarbstoffe	86
1.2	Analytik niedermolekularer, hydrophi=ler und schwach lipophiler Inhalts=und Zusatzstoffe	86
1.2.1	Antioxydantien - Gallate, Butyl=hydroxyanisol, Ascorbylpalmitat	87
1.2.1.1	Analytik der Antioxydantien	87
1.2.1.2	Dünnschichtchromatographischer Nach=weis von Ascorbylpalmitat	87
1.2.2	Hydrophile Farbstoffe	88
1.2.2.1	Teerfarbstoffe	88
1.2.2.1.1	Analytik der Teerfarbstoffe	88
1.2.2.2	Riboflavin	91
1.2.2.2.1	Nachweis des Riboflavins durch Fluoreszenz	92
1.2.2.2.2	Papierchromatographischer Nachweis des Riboflavins	92
1.2.2.3	Curcumin und Bixin	92

1.2.2.3.1	Analytik von Curcumin und Bixin	92
1.2.3	Formaldehyd	92
1.2.3.1	Analytik des Formaldehyds	92
1.2.4	Basen und amphotere Elektrolyte	93
1.2.4.1	Ammoniumionen	93
1.2.4.1.1	Analytik der Ammoniumionen	93
1.2.4.2	Cholin	93
1.2.4.2.1	Nachweis des Cholins	93
1.2.4.3	Chinin	93
1.2.4.3.1	Nachweis des Chinins durch Fällung	93
1.2.4.3.2	Nachweis durch Dünnschichtchromatographie	93
1.2.4.4	Glutaminsäure	94
1.2.4.4.1	Nachweis durch Papierchromatographie	94
1.2.4.4.2	Nachweis durch Dünnschichtchromatographie	94
1.2.5	Säuren	94
1.2.5.1	Konservierungsstoffe	94
1.2.5.1.1	Qualitative Analytik der Konservierungsstoffe	94
1.2.5.1.2	Quantitative Analytik der Konservierungsstoffe	96
1.2.5.2	Niedere Fettsäuren (1 C - 3 C)	98
1.2.5.2.1	Qualitative Analytik niederer Fettsäuren	98
1.2.5.2.2	Quantitative Analytik von Ameisensäure	99
1.2.5.3	Hydroxycarbonsäuren	99
1.2.5.3.1	Analytik der Hydroxycarbonsäuren	99
1.2.5.4	Süßstoffe - Saccharin und Natriumcyclamat	101
1.2.5.4.1	Analytik von Saccharin	101
1.2.5.4.2	Analytik von Natriumcyclamat	101
1.2.5.5	Anorganische Säuren	101

	Seite
1.2.6 Neutralstoffe	102
1.2.6.1 Antioxydantien - Butylhydroxy=anisol	102
1.2.6.2 Konservierungsstoffe - Ester der p-Hydroxybenzoesäure und Fruchtbehandlungsstoffe	102
1.2.6.2.1 Analytik der Konservierungsstoffe für Fruchtschalen	102
1.2.6.2.2 Analytik der Ester der p-Hydroxybenzoesäure	105
1.2.6.3 Aromastoffe - Vanilline	106
1.2.6.3.1 Analytik der Vanilline	106
1.2.6.4 Süßstoffe - Dulcin	106
1.2.6.4.1 Nachweis durch Dünnschichtchromatographie	106
1.2.6.4.2 Nachweis durch Farbreaktion	107
1.2.6.5 Emulgatoren - Lecithin und nichtionogene Emulgatoren	107
1.2.6.5.1 Analyse der Emulgatoren als Gesamtmolekül	107
1.2.6.5.2 Chromatographische Analyse der Verseifungsprodukte	108
1.2.6.6 Zucker	110
1.2.6.6.1 Qualitative Analytik der Zucker	110
1.2.6.6.2 Quantitative Analytik der Zucker	111
1.2.6.7 Polyalkohole - Glycerin, Glykole, Zuckeralkohole	113
1.2.6.7.1 Analytik der Polyalkohole	113
1.3 Analytik hochmolekularer hydrophiler und unlöslicher Inhalts- und Zusatzstoffe	115
1.3.1 Unlösliche pflanzliche Gewebestandteile	115
1.3.1.1 Analytik der Gewebestandteile	115
1.3.2 Eiweißstoffe bzw. Quellstoffe auf Eiweißbasis	115

	Seite
1.3.2.1 Analytik von Milcheiweiß	116
1.3.2.2 Analytik von Gelatine	117
1.3.2.2.1 Nachweis durch Fällung	117
1.3.2.2.2 Nachweis durch Elektrophorese	117
1.3.2.2.3 Dünnschichtchromatographie nach Hydrolyse	118
1.3.3 Quellstoffe auf Kohlenhydratbasis	119
1.3.3.1 Papierchromatographie nach Hydro=	
lyse	119
1.3.3.2 Elektrophorese der Quellstoffe	121
1.3.4 Unlösliche anorganische Be=	
standteile	122
1.3.4.1 Nachweis von Calciumcarbonat	122
1.3.4.2 Nachweis von Titandioxid	122
1.3.4.3 Analytik des Talkums	122
1.3.4.3.1 Komplexometrische Magnesiumbe=	
stimmung nach Aufschluß	123
 2. Auftrennung von Gemischen aus Lebens=	
mittelinhalts- und Zusatzstoffen	125
 2.1 Trennversuche aufgrund von Lös=	
lichkeiten	125
2.1.1 Lösungsversuche	125
2.1.1.1 Lösungsversuche mit verschie=	
denen Lösungsmitteln	125
2.1.1.2 Lösungsversuche mit Alginsäure	
und Carboxymethylcellulose	128
2.1.1.3 Mischbarkeit von Fetten mit	
absolutem Äthanol	129
2.1.2 Verteilungsversuche	130
2.1.2.1 Verteilungsversuche mit Lösungs=	
mitteln	130
2.1.2.1.1 Verteilung mit reinen Lösungs=	
mitteln	130

2.1.2.1.2	Mischbarkeit und Verteilung von zuckerhaltigen Lösungs= mitteln	131
2.1.2.2	Verteilungsversuche mit Stoff= fen, die sowohl in Petroläther als auch in wäßrigem Aceton löslich sind	132
2.1.2.3	Verteilungsversuche mit Ascorbylpalmitat	133
2.1.2.4	Verteilungsversuche mit Emulgatoren in wasserhaltigen Lösungsmitteln	133
2.1.2.5	Verteilungsversuche mit stark lipophilen Stoffen	135
2.1.2.5.1	Verteilungsversuch mit Butyl= hydroxytoluol	135
2.1.2.5.2	Verteilungsversuche mit Emul= gatoren in wasserfreien Lösungsmitteln	135
2.1.2.5.3	Verteilungsversuche mit Farb= stoffen	136
2.1.2.6	Verteilungsversuche mit Stoff= gemischen und Lebensmitteln	137
2.2	Trennversuche durch Fällung	138
2.2.1	Fällung von Quellstoffen	138
2.3	Trennversuche durch Lösung und Fällung bei Lebensmitteln	139
2.3.1	Trennversuche bei verschieden= artigen Lebensmitteln	140
2.3.2	Trennversuche bei Reis	141
2.4	Trennversuche durch Ionenaus= tausch an der Säule	143
2.4.1	Anionenaustauscherversuche	143
2.4.1.1	Vorversuch mit stark basischem Anionenaustauscher, OH-Form	143

2.4.1.2	Vorversuch mit schwach basischem Anionenaustauscher	144
2.4.1.3	Versuche mit stark basischem Anionenaustauscher, Hydroxid-Form	144
2.4.1.4	Versuche mit stark basischem Anionenaustauscher, Carbonat-Form	146
2.4.2	Versuche mit stark saurem Kationenaustauscher, H-Form	147
2.4.3	Trennversuch einer Stoffmischung	149
2.4.4	Versuche mit einzelnen Stoffen und Stoffgruppen	150
2.4.4.1	Versuch mit p-Hydroxybenzoesäureestern	151
2.4.4.2	Versuch mit Propylgallat und Nordihydroguajaretssäure	151
2.4.4.3	Versuch mit Glukose	152
2.4.4.4	Versuch mit Phosphaten	153
2.4.4.5	Versuch mit Emulgatoren	154
2.4.4.6	Versuch mit Ascorbylpalmitat	155
2.4.5	Ermittlung der Austauscherkapazitäten	156
2.4.6	Reinheitsprüfung von Anionenaustauscherharzen	157
2.4.7	Versuche zur quantitativen Bestimmung von Stoffen mit Ionenaustausch in wässrig-organischer Lösung	158
2.4.7.1	Bestimmung der Ameisensäure	158
2.4.7.1.1	Versuche zur quantitativen Bestimmung	158
2.4.7.1.2	Ergebnisse bei Lebensmitteln	159
2.4.7.2	Bestimmung der Sorbinsäure und der Benzoessäure	161

	Seite
2.4.7.2.1 Versuche mit Sorbinsäure	161
2.4.7.2.2 Ergebnisse bei Lebensmitteln	162
2.4.7.3 Bestimmung von Zucker	163
2.5 Trennversuche durch Ad=	
sorptionschromatographie	164
2.5.1 Vorversuche mit verschiedenen	
Sorbentien	164
2.5.2 Versuche mit Butylhydroxytoluol	166
2.5.3 Versuche mit Emulgatoren	168
2.5.4 Versuche mit Farbstoffen, Emul=	
gatoren, Antioxydantien und	
Lebensmitteln	170
2.5.5 Versuche mit Fruchtbehandlungs=	
stoffen	172
2.5.5.1 Versuche zur Extraktion von	
Zitrusfruchtschalen und Ad=	
sorption von Fruchtbehand=	
lungsstoffen	172
2.5.5.2 Quantitative Bestimmung von	
Fruchtbehandlungsstoffen	175
2.5.5.2.1 Quantitative Bestimmung von	
Diphenyl	175
2.5.5.2.2 Quantitative Bestimmung von	
o-Phenylphenol	176
2.5.5.2.3 Ergebnisse bei Zitrusfrucht=	
schalen	177
2.6 Analyse von Polysacchariden	
ohne und mit Quellstoffeigen=	
schaften	178
2.6.1 Hydrolyseversuche von Quell=	
stoffen auf Kohlenhydratbasis	178
2.6.2 Ergebnisse bei Lebensmitteln	181
 3. Systematischer Trennungsgang	
Schema 1	183

3.1	Aufarbeitung eines Lebens=	
	mittels in drei Phasen	187
3.1.1	Vorbereitung des Untersuchungs=	
	materials	187
3.1.2	Einwaage des Untersuchungsma=	
	terials	188
3.1.3	Auftrennung des Untersuchungs=	
	materials in drei Phasen	188
3.2	Aufarbeitung der wäßrigen Phase	193
3.2.1	Aufarbeitung ohne Ionenaustausch	193
3.2.2	Aufarbeitung mit Ionenaustausch	194
3.2.2.1	Abtrennung der Kationen	195
3.2.2.2	Abtrennung der Anionen	196
3.2.2.3	Neutralstoffe	200
3.3	Aufarbeitung der Fettphase	202
3.3.1	Vorbehandlung des Fettes	202
3.3.2	Auftrennung an der Kieselgelsäule	204
3.3.3	Auftrennung von Farbstoffen an	
	der Aluminiumoxidsäule	206
3.4	Aufarbeitung des unlöslichen	
	Rückstandes	207
3.4.1	Quantitative Bestimmungen	208
3.4.1.1	Milcheiweiß	208
3.4.1.2	Talkum auf Reis	208
3.4.2	Aufarbeitung zu qualitativen	
	Nachweisreaktionen	208
3.4.2.1	Wasserlösliche Bestandteile	208
3.4.2.2	Wasserunlösliche Bestandteile	209
3.5	Spezielle Trennungsgänge	209
3.5.1	Nachweis von Schalenbehand=	
	lungsmitteln bei Zitrusfrüchten	
	Schema 2	210
3.5.1.1	Vorbereitung des Untersu=	
	chungsmaterials	211
3.5.1.2	Einwaage des Untersuchungs=	
	materials	211

3.5.1.3	Fraktionierung der Frucht= behandlungsstoffe an der Kieselgelsäule	212
3.5.2	Nachweis von Oberflächen= behandlungsmitteln bei Reis Schema 3	213
3.5.2.1	Ablösung und Auftrennung der Oberflächenbehandlungsmittel in drei Phasen	214
3.5.2.2	Nachweis der einzelnen Ober= flächenbehandlungsmittel in den drei Phasen	214
4.	Probeanalysen zur Überprüfung des Tren= nungsganges	215
4.1	Kontrollanalysen mit voll= ständigem Trennungsgang	215
4.1.1	Sonnenblumen-Mayonnaise	215
4.1.2	Gesundheitskuchen	216
4.1.3	Doppelrahmfrischkäse	219
4.1.4	Speiseeispulver	220
4.1.5	Kutterhilfsmittel für Brühwürste	222
4.2	Kontrollanalysen mit ab= gekürztem Trennungsgang	224
4.2.1	Konfitüre	224
4.2.2	Weißer Tauchmasse für Salami	226
4.2.3	Gewürzgurken	226
4.2.4	Fett	228
4.2.5	Backfettvormischung	229
5.	Reagentienverzeichnis	232
III.	Zusammenfassung	246
	Literaturverzeichnis	248
	Lebenslauf	

0. EINLEITUNG

Fortschritt der Lebensmitteltechnologie, verstärkter Import aus nahen und fernen Ländern und zunehmende Konzentrierung der Lebensmittelfertigung im industriellen Bereich führten dazu, daß nur noch ein geringer Teil der Lebensmittel naturbelassen ist, der überwiegende Teil aber mit Zusatzstoffen unterschiedlicher Wirkungsweise versehen ist. So werden Zusatzstoffe verwendet, die eine nachteilige Veränderung der Lebensmittel vermeiden helfen, der Verbesserung des Aussehens und der Konsistenz dienen sowie eine physiologische Wirkung haben (1).

Mag auch die Verwendung dieser Zusatzstoffe in vielen Fällen als echte Produktverbesserung anzusehen sein, die der differenzierten und anspruchsvollen Verbrauchererwartung entgegenkommt, so kann ihre mißbräuchliche Verwendung die minderwertige Beschaffenheit eines Lebensmittels überdecken und auf diese Weise zu einer Täuschung des Verbrauchers führen. Eine noch größere Gefahr besteht bei dem Zusatz von Stoffen mit zweifelhafter oder noch unbekannter pharmakologischer Eigenwirkung.

Der immer größer werdenden Zahl an Zusatzstoffen wird daher von allen Seiten die größte Aufmerksamkeit gewidmet. Es wurden wissenschaftliche Gremien gebildet, die Richtsätze über die gesundheitliche Unbedenklichkeit, zum Teil auch über die technische Notwendigkeit oder Wirksamkeit der Zusatzstoffe aufstellen (2,3,4).

Daneben ist man bemüht, die jeweils bekannten Zusatzstoffe auch analytisch zu erfassen. Sowohl die konventionelle Lebensmittelanalytik (5) als auch neuere Nachweisverfahren sind aber ausschließlich darauf ausgerichtet, einzelne Stoffe oder Stoffgruppen gezielt nachzuweisen. Dadurch werden bei der Prüfung auf einen bestimmten Zusatzstoff eventuell vorliegende andere Stoffe gleicher oder verschiedener Wirkungsweise übersehen. Diese Analytik erfordert, will man eine möglichst erschöpfende Prüfung auf alle

gebräuchlichen Zusatzstoffe, eine Vielzahl von Einzelanalysen und damit eine oft nicht zur Verfügung stehende große Menge an Untersuchungsmaterial. Das Auffinden unerwarteter Zusatzstoffe wird so auch nur in Ausnahmefällen gelingen.

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war es daher, einen allgemein anwendbaren Trennungsgang zu finden, der alle besonders wichtigen Zusatzstoffe in den verschiedenartigen Lebensmitteln erfaßt und daneben auch Bestandteile der Lebensmittel selbst erkennen läßt. Dieser Trennungsgang sollte dabei für neue Stoffe die Möglichkeit der Erweiterung bieten und es gestatten, auch nicht übliche Zusatzstoffe aufzufinden.

Es erschien vorteilhaft, als Ausgangspunkt für ein solches Verfahren den von H. SUCKER (6) ausgearbeiteten Trennungsgang für Salbenroh- und Hilfsstoffe zu verwenden, diesen an die Besonderheiten der Lebensmittelanalytik anzupassen und auszubauen. Dabei mußten insbesondere die größere Verschiedenartigkeit der Lebensmittel selbst sowie ihrer Zusatzstoffe und ihre leichte Zersetzlichkeit berücksichtigt werden.

I. THEORETISCHER TEIL

1. Analytik der einzelnen Inhalts- und Zusatzstoffe

In diesem Abschnitt werden Nachweismethoden und Bestimmungsverfahren aufgeführt, die sich bei eigenen Untersuchungen zum Nachweis und zur Bestimmung der mit Hilfe des Trennungsganges isolierten Stoffe bewährten. Es handelt sich meist um eingeführte Analysenverfahren, die zum größten Teil unverändert übernommen werden konnten, zum Teil aber auch geringe Abänderungen zur Anpassung an die Gegebenheiten des im Abschnitt 3 beschriebenen Trennungsganges erfahren mußten. In einigen Fällen wurden eigene chromatographische Nachweisverfahren angewandt.

1.1 Analytik stark lipophiler Inhalts- und Zusatzstoffe

Die hier aufgeführten Stoffe fallen bei der Aufarbeitung der Fett- bzw. Petrolätherphase an.

1.1.1 Fette

Den Hauptteil dieser Phase und damit das Lösungsmittel für die darin nachzuweisenden Stoffe bildet das Fett selbst, das in fast allen Fällen als lebensmitteleigener Bestandteil vorliegen wird.

Fette können außer durch die Bestimmung einzelner Kennzahlen (5) auch durch chromatographische Verfahren charakterisiert werden. Hierbei werden zur Trennung der Triglyceride meist dünn- schicht- chromatographische Methoden eingesetzt (7,8,9), während die aus den Fetten hergestellten Hydroxamsäuren papierchromatographisch auf acetyliertem Filterpapier (10,11) oder dünn- schicht- chroma- tographisch auf Kieselgel G (12) aufgetrennt werden. Häufig werden die durch Umesterung der Fette hergestellten Methylester der Fett- säuren gaschromatographisch analysiert (z.B. 13).

1.1.2 Emulgatoren - Glyceride organischer Hydroxycarbonsäuren

Glyceride organischer Hydroxycarbonsäuren, insbesondere der Zitronensäure, der Weinsäure und der mit Essigsäure veresterten Weinsäure, werden als Kutterhilfsmittel, Backhilfsmittel und Zitronensäureglycerid auch zur Emulgierung von Mayonnaise verwendet.

1.1.2.1 Analytik der Glyceride als Gesamtmolekül

Zum Nachweis von Weinsäureglyceriden sind vorwiegend papierchromatographische Methoden vorgeschlagen worden, die auf einer unspezifischen Anfärbung des vom Neutralfett getrennten Emulgators oder, spezifischer, auf einer Anfärbung der in dem Glycerid enthaltenen Weinsäure beruhen (14,15,16). Zitronensäureglycerid konnte auf eine ähnliche Weise nicht sichtbar gemacht werden (17). E. PIETSCHMANN (18) trennt Weinsäureglycerid neben Monoglycerid und Sorbitanfettsäureester von Neutralfett, Fettsäuren und Diglyceriden auf Kieselgelplatten in 1 % Eisessig enthaltendem Isopropyläther und wertet die Flecken nach dem Besprühen mit Dichlorfluoresceinlösung bei 254 nm aus. Dieses Verfahren wurde bei eigenen Versuchen auch zum Nachweis von Zitronensäureglycerid verwendet durch anschließendes Besprühen des Chromatogramms mit wässriger, 0,1 proz. Natriumperjodatlösung. Neutralfette, Mono- und Diglyceride werden hierbei im feuchten Chromatogramm deutlich orange, während Zitronensäureglycerid als undurchsichtig-weißer, nur schwach oranger, gefranster Fleck am Startpunkt sichtbar wird. Ähnlich verhält sich Zitronensäureglycerid bei der in eigenen Versuchen zur Vorprobe angewendeten Chromatographie auf Kieselgel-G-Platten in Chloroform-Eisessig 96 + 4 und dem nachfolgenden Besprühen mit Natriumperjodat-Benzidin, wobei Zitronensäureglycerid als undurchsichtig-weiße Fahne oder gefranster Fleck erscheint und Weinsäureglycerid mehrere weiße Flecken auf blauem Grund gibt. Diese Vorprobe eignet sich auch für Lecithin und nichtionogene Emulgatoren, insbesondere aber zum Nachweis von Monoglycerid (Tabelle 15).

1.1.2.2 Analytik der Verseifungsprodukte

Weinsäure- und Zitronensäureglycerid werden spezifisch durch die Verseifungsprodukte nachgewiesen (16,17). Zum Nachweis dieser Glyceride wurde auch die zur Identifizierung der Fettsäureglyceride angewandte Umsetzung zu Hydroxamsäuren vorgeschlagen (18). Der Nachweis der Fettsäuren erfolgt in gleicher Weise wie bei den aus Neutralfetten hergestellten Hydroxamsäuren. Die Hydroxamate der Essig- und Weinsäure werden von E. PIETSCHMANN (18) im Fließmittelsystem n-Butanol-Dimethylformamid-Wasser 45 + 20 + 50 entwickelt. Dieses Verfahren wurde auch bei eigenen Untersuchungen angewendet. Es zeigte sich aber, daß der Hauptfleck des Zitronensäureglycerids an der gleichen Stelle liegt, wie der des Weinsäureglycerids, Milchsäureglycerid gibt dagegen einen Fleck an der Stelle des Essigsäureflecks von acetyliertem Weinsäureglycerid. Auf diese Weise ist eine Unterscheidung von Milchsäureglycerid neben acetyliertem Weinsäureglycerid oder Acetylfettsäureglycerid nicht möglich. Die Hydroxamate dieser Säuren wurden in eigenen Versuchen mit dem von A.R. THOMPSON (19) zur Chromatographie der Hydroxamate niederer Fettsäuren vorgeschlagenen Fließmittelsystem Amylalkohol-Essigsäure-Wasser 4 + 1 + 5 getrennt (Tabelle 2).

1.1.3 Kohlenwasserstoffe - Paraffin

Mit Paraffin wird vorzugsweise als Überzugsmittel für bestimmte Lebensmittel (Kaffeebohnen, Eier, Rosinen usw.) zu rechnen sein.

Die Anwesenheit von Paraffin in Fetten wird an der Erniedrigung aller Kennzahlen und der Erhöhung des Gehaltes der unverseifbaren Stoffe erkannt (5). Größere Mengen lassen sich auch durch die Verseifungsprobe nachweisen (20). In dem mit Fettlösungsmitteln hergestellten Extrakt aus Rosinen wird Paraffin dünnschichtchromatographisch auf Kieselgel durch Anfärbung mit Phosphormolybdänsäure erkannt (21) oder säulenchromatographisch an Kieselgel durch Auswägen der mit Petroläther eluierbaren Bestand-

teile bestimmt (22).

1.1.4 Antioxydantien - Butylhydroxytoluol

(vgl. auch Abschnitt 1.2.1)

Antioxydantien werden bei der Vorratshaltung von Fetten und fetthaltigen Lebensmitteln zur Verhinderung oder Verzögerung der Fettoxydation verwendet. Auch ätherische Öle werden hiermit vor Oxydationsvorgängen geschützt. Neben den natürlich vorkommenden Tokopherolen sowie der Ascorbinsäure und der Nordihydroguajaret=säure (NDGA) werden auch Alkylester der natürlich vorkommenden Gallussäure, Fettsäureester der Ascorbinsäure und die synthetisch hergestellten Stoffe Butylhydroxyanisol (BHA) und Butylhydroxytoluol (BHT) als Antioxydantien verwendet.

Antioxydantien werden in allgemeinen Nachweisreaktionen auf Grund ihrer Reduktionswirkung erkannt (23). Gallate können spezifisch durch ihre Rosafärbung mit Ammoniak nachgewiesen werden (23). Sicherer werden Antioxydantien neben Fettbegleitstoffen oder in Mischungen aus mehreren Antioxydantien dünn-schichtchromatographisch analysiert. Hierzu wird u.a. die Chromatographie auf Kieselgel-G-Platten (24), acetylierter Cellulose (25) und Polyamid (26) verwendet. Auch hier werden die Antioxydantien auf Grund ihrer Reduktionswirkung sichtbar gemacht.

Der Nachweis von BHT auf Kieselgel-G-Platten ist wesentlich empfindlicher als auf Polyamid. Vorhandene Fettbestandteile können aber bei dem auf Kieselgel durchgeführten Nachweis BHT vortäuschen. Das ist nicht möglich bei dem unter Verwendung eines wasserhaltigen Fließmittels durchgeführten Nachweis auf Polyamid, bei dem Fettbestandteile am Startpunkt verbleiben.

1.1.5 Lipophile Farbstoffe

Curcumin, der Farbstoff der Curcumawurzel, wird in isolierter Form als Farbstoff für Lebensmittel verwendet. Es handelt sich bei

diesem Farbstoff um ein Diferuloylmethan, das auch synthetisch hergestellt wurde (27).

Zur Gruppe der natürlich vorkommenden oder synthetisch zugänglichen Carotine und Carotinoide gehören Verbindungen mit Provitamin A-Wirkung wie z.B. β -Carotin, β -Apo-8'-Carotinal und β -Apo-8'-Carotinsäure wie auch Verbindungen ohne eine solche Wirkung wie Canthaxanthin, Lycopin, Bixin und Capsanthin. Die Farbstoffe rufen als Bestandteile von Lebensmitteln Färbungen hervor, zum Teil werden sie auch in isolierter Form zur Färbung von Lebensmitteln verwendet.

Chlorophyll ist der natürliche Farbstoff von grünen Pflanzenteilen. Es wird in Form von Spinat- oder Brennesselsaft auch zur Färbung von Lebensmitteln verwendet. Durch Verseifung des Chlorophylls werden die Natriumchlorophylline hergestellt, die im Gegensatz zu Chlorophyll wasserlöslich sind. Ihre Farbwirkung wird verstärkt durch teilweisen Ersatz des im Chlorophyllkomplex gebundenen Magnesiums durch Kupfer.

Zuweilen werden auch fettlösliche Teerfarbstoffe zur Färbung von Fetten oder fetthaltigen Lebensmitteln verwendet.

Carotin, Carotinoide und Curcumin werden meist säulenchromatographisch analysiert (28,29,30), wobei die einzelnen Eluate anschließend auch dünnschichtchromatographisch untersucht werden (29,30). Chlorophyll und Chlorophylline werden durch ihre unterschiedliche Löslichkeit erkannt, kupferhaltiges Chlorophyll oder Kupferchlorophylline können durch das Ausbleiben einer ziegelroten Fluoreszenz in der Farbstofflösung identifiziert werden (31). Fettlösliche Teerfarbstoffe, die überwiegend säulenchromatographisch an Aluminiumoxid isoliert werden (40), wurden dünnschichtchromatographisch von A. MONTAG (41) auf Kieselgel, von J. DAVIDEK, J. POKORNY und G. JANICEK (42) auf Aluminiumoxid getrennt.

Während Chlorophyll ein natürlicher Farbstoff ist und Chlorophylline sowie fettlösliche Teerfarbstoffe künstlich hergestellte

Zusatzstoffe darstellen, ist eine Unterscheidung bei den anderen Farbstoffen, ob es sich um isoliert zugesetzte Farbstoffe oder um Bestandteile von Lebensmitteln handelt, mitunter nur mikroskopisch oder durch quantitative Bestimmung (32) zu treffen.

1.2 Analytik niedermolekularer, hydrophiler und schwach lipophiler Inhalts- und Zusatzstoffe

Die hier aufgeführten Stoffe fallen bei der Aufarbeitung der wäßrigen Phase an. Als wäßrige Phase wird in dieser Arbeit das Gemisch von Wasser und mit Wasser mischbaren organischen Lösungsmitteln verstanden.

1.2.1 Antioxydantien - Gallate, Butylhydroxyanisol, Ascorbylpalmitat (vgl. auch Abschnitt 1.1.4)

Von den in wasserhaltigen Lösungsmitteln löslichen Antioxydantien kann nur BHA dünn-schichtchromatographisch auf Kieselgel mit Chloroform entwickelt werden. Gallate und NDGA bleiben am Startpunkt. Dagegen ist eine Trennung dieser Antioxydantien auf acetylierter Cellulose (25) oder Polyamid (26) möglich.

Ascorbylpalmitat gibt bei der allgemeinen Dünnschichtchromatographie der Antioxydantien auf Polyamid (26) einen Fleck in der Nähe des Startpunktes. Es kann spezifisch nachgewiesen werden durch seinen Bestandteil Ascorbinsäure, die nach Oxydation zu Dehydroascorbinsäure mit 2,4-Dinitrophenylhydrazin in das entsprechende bis-2,4-Dinitrophenylhydrazon überführt wird, das sich dünn-schichtchromatographisch gut charakterisieren läßt (33).

1.2.2 Hydrophile Farbstoffe

Neben der Färbung von Lebensmitteln mit Curcumin, Carotin und Carotinoiden wird als natürlicher Farbstoff auch das wasserlösliche Riboflavin, ein Vertreter der Vitamin B-Gruppe, verwendet.

Die größte Bedeutung haben die künstlichen Farbstoffe, die wegen ihrer kräftigen Färbewirkung und besseren Beständigkeit den Naturfarbstoffen häufig vorgezogen werden.

1.2.2.1 Teerfarbstoffe

Die Identifizierung der Farbstoffe durch Papier- und Dünnschichtchromatographie setzt ihre Isolierung voraus. Wasserlösliche Farbstoffe werden allgemein mit der Wollfadenmethode (5) isoliert. Diese hat jedoch wegen der hierfür notwendigen sauren Reaktion der Analysenlösung, der in der Wärme durchgeführten Anfärbung und Abfärbung des Wollfadens gewisse Nachteile, die bei der von J. DAVIDEK und J. POKORNY (34) angewendeten Isolierung der Farbstoffe mit Polyamid nicht auftreten. Auch in zucker- und säurehaltigen Lebensmitteln ist hiermit eine zersetzungsfreie Isolierung der Farbstoffe möglich. Bei eigenen Untersuchungen wurden jedoch zuweilen bessere Chromatogramme erhalten, wenn das Polyamideluat nochmals am Wollfaden umgefärbt wurde.

Zur Isolierung von wasserlöslichen Farbstoffen ist auch die Verwendung quaternärer Ammoniumsalze (35) und die Extraktion mit Chinolin (36) vorgeschlagen worden.

Die Identifizierung der Farbstoffe wird überwiegend nach dem von H. THALER und G. SOMMER (37) beschriebenen papierchromatographischen Verfahren durchgeführt. Für blaue und grüne Farbstoffe, die sich in dem hier angewendeten ammoniakalischen Fließmittel zersetzen oder nicht trennen, sind von M. NEY, K.G. BERGNER, H. SPERLICH und H. MIETHKE (38) mehrere Fließmittelsysteme angegeben worden. Zur dünn-schichtchromatographischen Analyse von Farbstoffen wurde Polyamid vorgeschlagen (39).

1.2.2.2 Riboflavin

Riboflavin wird nach Reinigung durch Fluoreszenz erkannt (43,44), anschließend auch papierchromatographiert (44).

1.2.3 Formaldehyd

Geringe Mengen Formaldehyd natürlichen Ursprungs können im Muskelfleisch von Meerestieren aus Trimethylaminoxid entstehen. Im übrigen handelt es sich um einen synthetisch hergestellten Stoff, der, wie das aus Formaldehyd und Ammoniak hergestellte Hexamethylenetetramin, stark antimikrobielle Wirkung besitzt.

Formaldehyd und Hexamethylenetetramin werden entweder mit fuchsin-schwefliger Säure, Milch und salzsaurer Eisenchloridlösung, Eisenchlorid und Pepton oder Chromotropsäure nachgewiesen (45). Am empfindlichsten ist der Nachweis mit Chromotropsäure, mit dem Formaldehyd noch in einer Verdünnung von 1 : 360 000 zu erkennen ist.

1.2.4 Basen und amphotere Elektrolyte

1.2.4.1 Ammoniumionen

Ammoniumsalze finden als Backtriebmittel Verwendung, Ammoniumchlorid wird auch Lakritzwaren als Aromastoff zugesetzt und schließlich kann mit Ammoniumsalzen hergestellte Zuckerkulör noch Ammoniakstickstoff enthalten.

Größere Ammoniakmengen werden nach Destillation titrimetrisch analysiert, geringe Mengen werden allgemein mit NESSLER-Reagenz bestimmt (5), das mit Ammoniumionen das schwerlösliche, orange-gelbe Jodid einer Verbindung vom Typus eines substituierten Ammoniumsalzes bildet.

1.2.42 Cholin

Cholin findet sich in fast allen tierischen und pflanzlichen Geweben in freier Form oder als Bestandteil von Phosphatiden. Salze des Cholins werden bei diätetischen Lebensmitteln als Kochsalzersatz verwendet.

Cholin wird im allgemeinen als Reineckat analysiert (z.B. 46), auch wurde ein dünnschichtchromatographischer Nachweis auf Aluminiumoxid G vorgeschlagen (47).

1.2.4.3 Chinin

Der wirksame Bestandteil der Chinarinde, Chinin, ist in Lebensmitteln als bitterer Geschmacksstoff in Limonaden, sogenannten Tonic Waters, in Mengen bis zu 8 mg/100 ml zu erwarten.

Chinin wird außer durch Fluoreszenz mit den üblichen Alkaloid-Fällungsreagenzien (48) oder dünnschichtchromatographisch (7) nachgewiesen.

1.2.4.4 Glutaminsäure

Glutaminsäure ist ein Bestandteil natürlicher Eiweißstoffe. Eiweißhydrolysate, d.h. Mischungen verschiedener Aminosäuren und auch Glutaminsäure allein in Form von Natriumglutamat werden als Würzstoffe verwendet.

Aminosäuren werden im allgemeinen papierchromatographisch (19,49) oder dünnschichtchromatographisch auf Kieselgel G (7) oder Cellulose (50) nachgewiesen. Die Identifizierung von Glutaminsäure gelang in Zweifelsfällen am besten papierchromatographisch, so daß diese Methode trotz der mit der Verwendung des phenolhaltigen Fließmittels verbundenen Nachteile aufgeführt wird.

1.2.5 Säuren

1.2.5.1 Konservierungsstoffe

Benzoessäure, p-Hydroxybenzoessäure, die Ester der p-Hydroxybenzoessäure sowie Sorbinsäure weisen antimikrobielle Eigenschaften auf, sie werden daher als Konservierungsstoffe verwendet.

1.2.5.1.1 Qualitative Analytik der Konservierungsstoffe

Außer durch Farbreaktionen, wie die MOHLER'sche Reaktion oder die Färbung mit MILLONs-Reagenz (45), werden die Konservierungsstoffsäuren und ihre Ester vorwiegend papierchromatographisch (z.B. 51) nachgewiesen, wobei Verfahren mit aufsteigender, absteigender und horizontaler Fließmittelrichtung verwendet werden (45). Für die Analytik auf Dünnschichtplatten wurde Kieselgel G (45) und Polyamid (52) eingesetzt. Hierbei hat der dünn-schichtchromatographische Nachweis den Vorteil der schnelleren Durchführbarkeit, während mit der absteigenden Papierchromatographie mit wassergesättigtem Butanol in Ammoniakatmosphäre die Trennung von Benzoesäure und Sorbinsäure gelingt. Auch ist für die Anfärbung der Ester mit MILLONs-Reagenz nur Papier, nicht aber die Polyamidplatte geeignet.

1.2.5.1.2 Quantitative Analytik der Konservierungsstoffe

Benzoesäure wird nach der Isolierung entweder titrimetrisch (53), spektrophotometrisch (54), gaschromatographisch (55) oder kolorimetrisch über ihre Nitroverbindungen bestimmt, wobei diese entweder in quantitativer Anwendung der MOHLER-Reaktion zu Diaminobenzoessäure reduziert werden (45) oder die mit Natronlauge entstehende Färbung ausgewertet wird, wie in der von P. SPANYÄR, E. KEVEI und M. KISZEL vorgeschlagenen Bestimmungsmethode (56). Die in dem letzten Verfahren beschriebene kolorimetrische Bestimmung, die mit der nach verschiedenen, auf die einzelnen Lebensmittel abgestellten Aufbereitungsverfahren isolierten Benzoesäure durchgeführt wird, konnte für die im vorliegend beschriebenen Trennungsgang isolierte Benzoesäure ohne Abänderung übernommen werden.

Sorbinsäure wird vorwiegend gaschromatographisch (55) oder kolorimetrisch nach H. SCHMIDT (57) bestimmt. Die kolorimetrische Bestimmung, bei der die Farbreaktion des durch Oxydation aus Sorbinsäure entstandenen Malondialdehyds mit Thiobarbitursäure

quantitativ ausgewertet wird, sieht die Isolierung der Sorbinsäure aus dem Untersuchungsmaterial durch Destillation vor. Zur Anwendung dieser kolorimetrischen Bestimmung für die im Trennungsgang isolierte Sorbinsäure wird ein aliquoter Teil des Ätherextraktes der Säuren in warmem Wasser gelöst.

1.2.5.2 Niedere Fettsäuren (1 G - 3 G)

Ameisensäure, Essigsäure und Propionsäure haben konservierende Eigenschaften, Essigsäure wird auch aus geschmacklichen Gründen bei der Lebensmittelherstellung verwendet. Die konservierende Eigenschaft ist am stärksten bei Ameisensäure ausgeprägt, Essigsäure und Propionsäure bzw. ihre Salze werden als spezielle Konservierungsmittel für Backwaren verwendet.

1.2.5.2.1 Qualitative Analytik der niederen Fettsäuren

Der Nachweis der flüchtigen Säuren wird vorzugsweise papierchromatographisch geführt, wobei die Säuren entweder als Ammoniumsalze (45) oder als Hydroxamsäuren in der von A.R. THOMPSON (19) vorgeschlagenen Weise chromatographiert werden. Ameisensäure kann auch nach Reduktion mit Magnesium in salzsaure Lösung in üblicher Weise als Formaldehyd nachgewiesen werden (45).

1.2.5.2.2 Quantitative Analytik von Ameisensäure

Die Reduktion der Ameisensäure zu Formaldehyd und die anschließende Farbentwicklung mit Chromotropsäure wird auch zur quantitativen Bestimmung der durch Wasserdampfdestillation oder Ätherperforation isolierten Ameisensäure verwendet (45,58). Daneben wird die Ameisensäure nach H. FINCKE (5) durch das aus einer Quecksilber(II)-chloridlösung ausgeschiedene Quecksilber(I)-chlorid bestimmt. Diese Bestimmung ist bei Gegenwart von Sorbinsäure nicht anwendbar (45). Durch Ionenaustausch isolierte Ameisensäure konnte nur mit Hilfe der Quecksilberchlorid-Methode ana-

lysiert werden (vgl. Abschnitt 2.4.7.1.1). Die im Äther enthaltene Ameisensäure muß in wäßrige Lösung überführt werden. Durch Ausschüttlung der Ameisensäure mit 20 ml 1 n Natronlauge, die nachfolgend mit 20 ml 1 n Salzsäure wieder neutralisiert werden, ist zugleich der zur gravimetrischen Bestimmung erforderliche Natriumchloridgehalt vorhanden.

1.2.5.3 Hydroxycarbonsäuren

Diese Säuren sind mitbestimmend für den Geruch und Geschmack der Lebensmittel, sie sind darin als natürliche Inhaltsstoffe vorhanden, oft aber auch aus geschmacklichen Gründen zugesetzt worden. Salze der organischen Hydroxycarbonsäuren finden auch als Kutterhilfsmittel Verwendung, zuweilen dienen sie zur Regulierung des pH-Wertes und als Hilfsstoffe bei Gärungsprozessen. Einige dieser Säuren werden auch als Synergisten zur Verzögerung von Oxydationsvorgängen in Fetten verwendet.

Neben einzelnen Fällungs- und Farbreaktionen (5) werden vorzugsweise die Papierchromatographie (59,60) und auch die Dünnschichtchromatographie (61) zum Nachweis dieser Säuren verwendet. Mit dem Fließmittel Äther-Ameisensäure-Wasser 80 + 16 + 12 (59) kann eine zweifelsfreie Trennung von Zitronensäure, Äpfelsäure, Weinsäure und Milchsäure erfolgen. In eigenen Versuchen wurden die mit Acridin sichtbar gemachten Säuren noch nachfolgend mit Natriumperjodat-Benzidin angefärbt, wodurch eine sicherere Identifizierung von Weinsäure und Glukonsäure erreicht wurde (Tabelle 11). Mit diesem Fließmittel gelingt jedoch nicht die Trennung von Bernsteinsäure, Milchsäure und der zusammen mit diesen Säuren isolierten Cyclohexylsulfaminsäure. Auch in dem von T. SALO, E. AIRO und K. SALMINEN (62) vorgeschlagenen dünn-schichtchromatographischen Nachweis von Süßstoffen, der auch zum Nachweis von Süßstoffen in Erfrischungsgetränken verwendet wurde (63), werden Milchsäure und Cyclohexylsulfaminsäure nicht getrennt. Es wurde daher in eigenen Untersuchungen eine große Zahl Fließmittelkombinationen geprüft, von denen sich nur das System Äthanol-Wasser-Ammoniaklösung 80 + 16 + 4 zur Trennung

der in dem ersten Fließmittel nicht aufzutrennenden Säuren eignete (Tabelle 11). Der Nachweis der auf dieser Weise getrennten Cyclohexylsulfaminsäure und Milchsäure wird außerdem durch die unterschiedliche Färbung und Fluoreszenz der mit Acridin angefärbten Säuren erleichtert. Cyclohexylsulfaminsäure gibt im Gegensatz zu Milchsäure einen bei Tageslicht dunkelgelben Fleck, der auch im UV-Licht dunkel fluoresziert. Für Glukonsäure in schnittfester Rohwurst wurde eine einfache dünnschichtchromatographische Vorprobe aus unserem Laboratorium beschrieben (64).

1.2.5.4 Süßstoffe - Saccharin und Natriumcyclamat (vgl. auch Abschnitt 1.2.6.4)

Das Natriumsalz des Saccharins hat etwa die 450-fache, das der Cyclohexylsulfaminsäure (Natriumcyclamat) die etwa 35-fache und Dulcin die 250-fache Süßkraft gegenüber Saccharose. Diese Stoffe werden daher vorwiegend aus diätetischen Gründen anstelle von Zucker zum Süßen von Lebensmitteln verwendet.

Außer durch Methoden der organischen Tüpfelanalyse (65) wird Saccharin dünnschichtchromatographisch (62), gaschromatographisch als Methylester (66) oder papierchromatographisch als Salicylsäure (67) nachgewiesen.

Auch Cyclohexylsulfaminsäure kann durch Tüpfelanalyse nachgewiesen werden (65). Der dünnschichtchromatographische Nachweis (62) ist bei Gegenwart von Milchsäure, die an der gleichen Stelle einen Fleck gibt wie Cyclohexylsulfaminsäure, nicht durchführbar. Dagegen gelang ein papierchromatographischer Nachweis (vgl. Abschnitt 1.2.5.3).

1.2.5.5 Anorganische Säuren

Salze anorganischer Säuren werden aus Geschmacksgründen (Natriumchlorid), als Kutterhilfsmittel, Backhilfsmittel und Röte=

mittel zugesetzt.

Chlorid wird in üblicher Weise als schwer lösliches Silberchlorid in salpetersaurer Lösung nachgewiesen. Zum Nachweis von Nitrat dienen die Fällung mit Nitron oder die Farbreaktionen mit Eisen(II)-sulfat, Diphenylamin oder Brucin (105). Der qualitative Nachweis von Phosphorsäure wird allgemein durch Fällung als Ammoniumphosphormolybdat durchgeführt. Eine Unterscheidung der Phosphorsäuren erfolgt dünnschichtchromatographisch (7,68), vorwiegend jedoch papierchromatographisch (z.B. 69), sie kann nur außerhalb des Trennungsganges, d.h. in dem Untersuchungsmaterial direkt vorgenommen werden.

1.2.6 Neutralstoffe

1.2.6.1 Antioxydantien - Butylhydroxyanisol

Als einziges Antioxydans tritt BHA in der Neutralstofffraktion auf, sein Nachweis kann durch diese Tatsache abgesichert werden. Bei einer Untersuchung von Essenzen bzw. ätherischen Ölen, die auf Fruchtbehandlungsstoffe geprüft werden, kann von einem gesonderten Nachweis des BHA abgesehen werden, da das Antioxydans hierbei ebenfalls sichtbar wird (vgl. Abschnitt 1.2.6.2; Tabelle 13).

1.2.6.2 Konservierungsstoffe

Neutrale, konservierend wirkende Stoffe sind die Ester der p-Hydroxybenzoesäure und die Fruchtbehandlungsstoffe Diphenyl, o-Phenylphenol, Thioharnstoff und Diphenylamin. Während die Ester der p-Hydroxybenzoesäure allgemein zur Lebensmittelkonservierung verwendet werden, verhindern oder verzögern Diphenyl, o-Phenylphenol, Thioharnstoff und auch Diphenylamin den Schimmelbefall oder die Fäulnis von Zitrusfrüchten.

Der qualitative Nachweis der PHB-Ester wurde bereits in Abschnitt 1.2.5.1.1 behandelt. Der qualitative Nachweis der konservierend wirkenden Fruchtbehandlungsstoffe erfolgt durch Tüpfelreaktion, wobei Diphenyl durch LE-ROSEN-Reagenz (formaldehydhaltige Schwefelsäure), o-Phenylphenol durch EMERSON-Reagenz (4-Aminoantipyrin) und Diphenylamin mit salpetersäurehaltiger Schwefelsäure nachgewiesen werden (z.B. 70, 71). Diese Stoffe werden aber auch dünnschichtchromatographisch (45) und papierchromatographisch (72) analysiert. Der papierchromatographische, nur für Diphenyl, o-Phenylphenol und Thioharnstoff vorgesehene Nachweis erwies sich bei eigenen Untersuchungen auch gleichzeitig als geeignet zum Nachweis von Diphenylamin, wenn abschließend mit einer Wasserstoffperoxid-Salpetersäuremischung besprüht wird, wodurch auch geringe Diphenylaminmengen sichtbar werden (Tabelle 13).

Die quantitative Bestimmung des Diphenyls erfolgt vorwiegend spektralphotometrisch, wobei die Absorption des Diphenyls (z.B. 73) oder die des sulfurierten Diphenyls (74) gemessen wird, oder kolorimetrisch, z.B. nach H. BÖHME und G. HOFMANN (75), wobei die durch Nitrierung des Diphenyls erhaltenen Nitroprodukte in einen Azofarbstoff überführt werden. Das genannte kolorimetrische Verfahren ist auch für das im speziellen Trennungsgang nach Abschnitt 3.5.1 isolierte Diphenyl anwendbar, wenn der Tetrachlorkohlenstoff, mit dem Diphenyl spezifisch aus der Kieselgelsäule eluiert wird, im Vakuum bis zu einer Restmenge von etwa 2 ml entfernt wird (vgl. Abschnitt 2.5.5.2.1).

Für o-Phenylphenol sind neben gaschromatographischen (z.B. 76) vorwiegend kolorimetrische Verfahren (z.B. 75,77) beschrieben worden. Vor Anwendung der von H. BÖHME und G. HOFMANN (75) beschriebenen Bestimmung für das im Trennungsgang isolierte o-Phenylphenol muß eine Abtrennung von gleichfalls eluierten, wachsartigen Schalenbestandteilen erfolgen, weil diese eine Trübung der Farblösung ergeben. Die in der genannten Arbeit (75)

nach der Isolierung des o-Phenylphenols durchgeführte Reinigung über das Natriumsalz wird daher beibehalten. Die dort vorgesehene Entfernung des Petroläthers durch Adsorption des o-Phenylphenols an Aluminiumoxid und erneute Lösung durch Isopropanol in der Siedehitze wurde aber ausgelassen, da bei Vergleichsversuchen das einfache Abdunsten des Petroläthers bei Zimmertemperatur nicht zu Verlusten führte. In Abänderung des genannten kolorimetrischen Verfahrens (75) wird die Farblösung durch Auffüllung auf ein kleineres Volumen erhalten.

1.2.6.3 Aromastoffe - Vanilline

Das Aroma von Lebensmitteln kann durch Zugabe der aromatischen Aldehyde Vanillin und Äthylvanillin beeinflusst werden. Beide Aromastoffe sind synthetisch herstellbar, Vanillin kann jedoch auch als natürlicher Geschmacksstoff vorliegen.

Vanillin und Äthylvanillin werden durch Farbreaktionen erkannt (5), gebräuchlicher ist jedoch der chromatographische Nachweis, der z.T. auf der Dünnschichtplatte (7), überwiegend jedoch auf dem Papier (78,79) durchgeführt wird. Die aus den Aldehyden hergestellten 2,4-Dinitrophenylhydrazone sind auch zur quantitativen Bestimmung der Geschmacksstoffe geeignet (79).

1.2.6.4 Süßstoffe - Dulcin

(vgl. auch Abschnitt 1.2.5.4)

Dulcin wurde von anderen Süßstoffen, darunter auch Saccharin, von R. KLIFFMÜLLER (80) papierchromatographisch in dem Fließmittel n-Butanol-Isobutanol-Ammoniaklösung (konz.)-Wasser-Äthanol 35 + 35 + 20 + 10 + 7,5 getrennt und mit 65 proz. Salpetersäure-Aceton 20 + 80 spezifisch angefärbt. Dünnschichtchromatographisch wurde Dulcin neben Saccharin auf Kieselgel HF²⁵⁴ (81) und neben Saccharin und Cyclamat auf acetyliertem Cellulosepulver - Polyamid (62,63) nachgewiesen. Im Trennungsgang isoliertes Dulcin ist bereits von Saccharin und Cyclamat

getrennt, ein chromatographischer Nachweis ist daher nur bei Gegenwart anderer störender Stoffe notwendig. Im allgemeinen genügt die Geschmackprobe und die Anfärbung der auf Filterpapier getropften Analysenlösung mit Aceton-Salpetersäurereagenz.

1.2.6.5 Emulgatoren - Lecithine und nichtionogene Emulgatoren (vgl. auch Abschnitt 1.1.2)

Die natürlich, besonders in Eigelb und Sojaöl, vorkommenden Lecithine finden, neben ihrem Einsatz als Synergisten auf Grund ihrer metall-inaktivierenden Eigenschaften, vor allem als Emulgatoren bei der Herstellung von Backwaren, Margarine und Süßwaren Verwendung. Auch Fettsäuremonoglyceride dienen vielseitigen Emulgierungszwecken, z.B. als Bindemittel für Backfette, Stabilisatoren für Schokoladenüberzüge und Süßwaren und als Zusatz zu Backwaren, in denen sie darüber hinaus das Altbackenwerden verzögern. In ähnlicher Weise wirken auch Sorbitanfettsäureester, während Polyglycerinester vorwiegend zur Emulgierung und als Antispritzmittel für Margarine geeignet sind. Auch Polyoxyäthylen-Sorbitanfettsäureester verzögern die Fetreifbildung bei Schokolade, sie erhöhen die Löslichkeit von Milchpulver und werden als Emulgatoren für pflanzliche Öle und fetthaltige Kuchenmischungen und -füllungen verwendet (82). Propylenglykolfettsäureester haben dagegen bei Lebensmitteln noch keine allgemeine Anwendung gefunden.

Phospholipide werden papierchromatographisch an mit Kieselsäure imprägniertem Papier (19) oder dünnschichtchromatographisch auf Kieselgel G (7) nachgewiesen, Lecithin wird allgemein über seinen Gehalt an Phosphorsäure analysiert (5). Monoglyceride werden entweder über den durch Oxydation mit Perjodsäure entstehenden Formaldehyd bestimmt, dessen Farbreaktion mit Chromotropsäure ausgewertet wird (83) oder über den gleichfalls entstehenden Fettsäureester des Hydroxyacetaldehyds, der durch die bei Umsetzung mit Benzolsulphydroxamsäure entstehende Formhydroxamsäure nachgewiesen wird (11). Sorbitan-, 1,2-Propy-

lenglykol- und Polyoxyäthylen-Sorbitanfettsäureester weist man durch die nach Umsetzung der Emulgatoren mit alkalischer Hydroxylaminlösung entstehenden Spaltprodukte Sorbitan und Isosorbid, Polyoxyäthylen-Sorbitan und 1,2-Propylenglykol nach (11). E. PIETSCHMANN (18) verwendet zur Sichtbarmachung der neutralen Spaltprodukte des Sorbitanfettsäureesters Natriumperjodat-Benzidinlösung. Polyglycerinfettsäureester werden von J. WURZIGER und W. GEBAUER (14) durch Verseifung, papierchromatographische Trennung und Nachweis des Polyglycerins mit ammoniakalischer Silbernitratlösung oder Bleitetraacetatlösung sichtbar gemacht. Ohne Verseifung entwickelt E. KRÖLLER Sorbitanfettsäureester (84) auf Kieselgel-G-Platten und Polyoxyäthylen-Sorbitanfettsäureester (85) auf mit Dimethylformamid imprägniertem Papier und färbt die erstgenannten Emulgatoren mit Bleitetraacetatlösung und die zweiten mit bariumphosphorsäurehaltigem DRAGENDORFF-Reagenz an.

Bei eigenen Untersuchungen wurde während des Trennungsganges im Ätherextrakt der Neutralstoffe isolierter Polyglycerinfettsäureester bei dem Nachweis der neutralen Spaltprodukte (11) mit Natriumperjodat-Benzidinlösung ebenfalls sichtbar (Tabelle 16). Die einzelnen kondensierten Glycerine konnten jedoch getrennt und dadurch vorhandenes Polyglycerin zweifelsfrei charakterisiert werden durch Anwendung des von Chr. GENEST und D.G. CHAPMAN (86) zur Trennung von Zuckern, Zuckeralkoholen und Glycerin vorgeschlagenen papierchromatographischen Verfahrens (Tabelle 18). Auch Lecithin wird bei der Chromatographie nach (11) durch zwei charakteristische Flecken sichtbar, es kann jedoch auch nach Abschluß der papierchromatographischen Analysen in der restlichen Lösung durch die bei der Umsetzung mit alkalischer Hydroxylaminlösung freigesetzte Phosphorsäure nachgewiesen werden.

1.2.6.6 Zucker

Der Geschmack vieler Lebensmittel wird wesentlich durch ihren Zuckergehalt bestimmt. Der Zucker wird entweder, wie Saccharose,

als solcher zugesetzt oder er liegt, wie Laktose in Milchprodukten, als natürlicher Bestandteil einer Lebensmittelart vor.

Zucker werden außer durch allgemeine Nachweisreaktionen, z.B. mit *L*-Naphthol nach MOLISCH oder mit Anthron (87), vorwiegend mit papierchromatographischen (z.B. 87,69) oder dünn-schichtchromatographischen Verfahren z.B. auf Celluloseschichten (88), Kieselgelschichten (89), gepufferten Kieselgurschichten (90) und Kieselgel-G-Borsäureschichten (91) analysiert. Bei eigenen Untersuchungen konnten Mischungen aus verschiedenen Zuckerarten in unterschiedlicher Menge zweifelsfrei nach dem papierchromatographischen Verfahren von BUCHAN und SAVAGE (87) analysiert werden. Die quantitative Bestimmung der Zuckerarten erfolgt refraktometrisch und pyknometrisch als Extrakt, spezifischer jedoch polarimetrisch, reduktometrisch und kolorimetrisch (5,87).

Die genannten Methoden sind mit der bei vorliegendem Trennungsgang anfallenden ionenfreien Analysenlösung durchführbar. Auch kann in manchen Fällen ohne weitere Klärung eine quantitative Bestimmung durch Polarisierung der Lösung durchgeführt und dadurch der Saccharose- und Stärkesirupgehalt ermittelt werden. Bei größeren Stärkesirupmengen muß der im unlöslichen Rückstand enthaltene Dextrinanteil berücksichtigt werden. Auch die einfache Zuckerbestimmung durch Ermittlung des Extraktgehaltes in der ionenfreien Lösung ist in vielen Fällen anstelle einer Ermittlung des Gesamtzuckergehaltes durch die Bestimmung der einzelnen Zucker ausreichend, wenn keine wesentlichen Mengen anderer wasserlöslicher Neutralstoffe festgestellt werden. Bei milchzuckerhaltigen Präparaten muß jedoch damit gerechnet werden, daß der Milchzucker bei der Aufarbeitung nicht immer quantitativ in Lösung gehalten werden kann (vgl. Abschnitt 3.1.2). Für die annähernde Bestimmung des Stärkesirupgehaltes auf Reis wird eine Bestimmungsmöglichkeit angegeben.

1.2.6.7 Polyalkohole - Glycerin, Glykole, Zuckeralkohole

Glycerin wird als Weichhaltemittel in Gelatineüberzügen bei Fleischerzeugnissen verwendet, als Lösungsmittel für Essenzen werden neben Glycerin 1,3-Butylenglykol, Diäthylenglykol und 1,2-Propylenglykol gebraucht, die gleichen Stoffe finden auch als Feuchthaltemittel für Tabakerzeugnisse Verwendung. 1,2-Propylenglykol und Glycerin werden auch bei der Kaugummiherstellung und Glycerin in Vermischungen von Farbstoffen und Konservierungsstoffen verwendet. Mannit und Sorbit sind in Pflanzen weit verbreitete Zuckeralkohole, die vorwiegend aus diätetischen Gründen als Zuckeraustauschstoffe, Sorbit aber auch als Feuchthaltemittel verwendet werden.

Glycerin, Glykole und Zuckeralkohole werden papierchromatographisch (11,86,92) und dünnschichtchromatographisch auf Kieselgur-Kieselgelschichten (93), aktiviertem (94) und nichtaktiviertem Kieselgel (7) analysiert. Für die einwandfreie Identifizierung von Mischungen verschiedener Polyalkohole ist nach eigenen Erfahrungen der Einsatz verschiedener Methoden zweckmäßig. Eine Trennung von Mannit und Dulcit gelang allerdings nach keinem der angegebenen Verfahren.

1.3 Analytik hochmolekularer hydrophiler und unlöslicher Inhalts- und Zusatzstoffe

Die hier aufgeführten Stoffe fallen bei der Aufarbeitung des unlöslichen Rückstandes bzw. der festen Phase an.

1.3.1 Unlösliche pflanzliche Gewebestandteile

Pflanzliche Zellbestandteile werden grundsätzlich mikroskopisch analysiert (95).

1.3.2 Eiweißstoffe bzw. Quellstoffe auf Eiweißbasis

Proteine und Proteide sind Bestandteile oder Begleitstoffe von Lebensmitteln. Als Quellstoffe oder Bindemittel werden Milcheiweiß in Form von Magermilchpulver oder aufgeschlossenen, alkalibehandeltem Milcheiweiß und Gelatine verwendet.

Der qualitative Nachweis von Milcheiweiß wird mit Hilfe der Elektrophorese durchgeführt, wobei das in einer Natriumoxalatlösung lösliche Eiweiß in einer Veronalpufferlösung entwickelt wird (96). Überwiegend wird der Milcheiweißgehalt jedoch quantitativ auf Grund des im Milcheiweiß enthaltenen Phosphoproteid-Phosphors bestimmt (97,98). Hierbei werden die Phospholipide mit organischen Lösungsmitteln aus dem Untersuchungsmaterial extrahiert und der organisch gebundene, wasserlösliche Phosphoranteil durch Trichloressigsäure (97) oder Perchlorsäure (98) entfernt. Aus dem in dieser Weise gereinigten Gesamteiweiß wird der Phosphoproteid-Phosphor durch Inkubation mit Natronlauge abgespalten (97) oder das Eiweiß wird mit Perchlorsäure naß verascht (98). Die Berechnung des Milcheiweißes aus dem in der aufgeschlossenen Lösung kolorimetrisch bestimmten Phosphorgehalt erfolgt unter Zugrundelegung eines Phosphoproteid-Phosphorgehaltes von 0,65 % im Milcheiweiß.

Für die eigenen Untersuchungen wurde das von W. KUTSCHER, W. NAGEL und W. PFAFF (97) vorgeschlagene Verfahren in einer etwas abgeänderten Form (99) angewendet.

Die mit Pikrinsäure durchgeführte Fällung ist nicht spezifisch für Gelatine (5). Sie wird dagegen spezifisch nach M. PADMOYO und A. MISEREZ mit Hilfe der Elektrophorese auf Filterpapier (100) oder Celluloseacetatfolien (101) in Natriumcarbonat-Natriumhydrogencarbonat-Pufferlösung nachgewiesen. Die Anwendung dieses Verfahrens ergab bei eigenen Untersuchungen für die im Trennungsgang isolierte Gelatine in jedem Fall zweifelsfreie Ergebnisse.

Gelatine enthält als charakteristische Aminosäure Hydroxyprolin, die zur quantitativen Ermittlung des Gelatinegehaltes in einem Lebensmittel dient (102). Die Hydrolyseprodukte der Gelatine werden daher auch dünn-schichtchromatographisch auf Cellulose identifiziert (50). Im Gegensatz zu dem Fleck des Prolins, der auch bei Milcheiweiß auftritt, ist der gelbe Fleck des Hydroxyprolins weniger gut sichtbar.

1.3.3 Quellstoffe auf Kohlenhydratbasis

Kohlenhydrat-Quellstoffe werden bei der Lebensmittelherstellung häufig verwendet. Neben den natürlichen Quellstoffen Pektin, Traganth, Johannisbrotkernmehl, Guargummi, Gummi arabicum, Agar-Agar, Carrageen, Alginsäure und Stärke werden auch das Stärkeabbauprodukt Dextrin und die teilsynthetischen Quellstoffe Methylcellulose und Carboxymethylcellulose als Dickungsmittel, Emulgatoren und Stabilisatoren angewandt.

1.3.3.1 Papierchromatographie nach Hydrolyse

Außer dem Nachweis durch Farb- und Fällungsreaktionen, dem mikroskopischen Nachweis und dem Nachweis auf Grund von Viskositätsänderungen (5) werden Quellstoffe vor allem durch ihre Hydrolyseprodukte charakterisiert (103,104). Das hier angewandte Hydrolyseverfahren und die zur Hydrolyse der Quellstoffe durchgeführten eigenen Versuche sind in Abschnitt 2.6 näher ausgeführt. Der Nachweis der Hydrolyseprodukte erfolgt papierchromatographisch (z.B. 104) oder dünn-schichtchromatographisch (z.B. 88). Bei eigenen Versuchen wurden mit der absteigenden Papierchromatographie in dem System Isobutanol-Pyridin-Wasser 6 + 4 + 3 bessere Ergebnisse erhalten als mit dünn-schichtchromatographischen Verfahren.

1.3.3.2 Elektrophorese der Quellstoffe

Kohlenhydrate auf Quellstoffbasis wurden von M. PADMOYO und

A. MISEREZ (101) erstmals durch Elektrophorese auf Cellulose=acetatfolien analysiert. Diese Analytik macht eine Unterscheidung von pflanzlichen Quellstoffen und pflanzlichen Polysacchariden, die keine Quellstoffe sind, aber als natürliche Lebensmittelbestandteile neben Quellstoffen vorliegen können, möglich. Die Elektrophorese wird daher mindestens in den Fällen durchzuführen sein, wo nach Art der Hydrolyseprodukte Zweifel über die An- oder Abwesenheit von Quellstoffen entstehen (vgl. Abschnitt 2.6.2).

1.3.4 Unlösliche anorganische Bestandteile

Calciumcarbonat und Titandioxid finden als Pigmentfarbstoffe Verwendung. Talkum, ein Magnesiumhydrosilikat wechselnder Zusammensetzung, bewirkt, in Mischung mit Stärkesirup auf Reiskörner aufgebracht, eine lange Haltbarkeit des Reises und verleiht ihm zugleich ein gefälligeres Aussehen.

Bei dem Ansäuern des Untersuchungsmaterials mit Schwefelsäure zu Beginn des Trennungsganges vorliegendes Calciumcarbonat geht unter Abspaltung von CO_2 in unlösliches Calciumsulfat über, das in üblicher Weise nachgewiesen wird.

Titandioxid wird am besten mit Kaliumhydrogensulfat aufgeschlossen, wobei lösliches Titanylsulfat entsteht, das in schwefelsaurer Lösung mit Wasserstoffperoxid das orangerote, peroxidische Anion der Peroxodisulfatotitansäure bildet (105).

Talkum enthält theoretisch 19,25 % Magnesium, es kann durch diesen Gehalt identifiziert werden. Hierzu wird das Talkum in üblicher Weise mit einer Natrium-Kaliumcarbonatmischung aufgeschlossen (z.B. 105) und das Magnesium nach Abtrennung der Kieselsäure bestimmt. Dafür eignet sich insbesondere die komplexometrische Titration. Die vorliegend angewendete Ausführung entstammt der Sammlung internationaler Weinanalysemethoden (106).

2. Auftrennung von Gemischen aus Inhalts- und Zusatzstoffen

Der Nachweis einzelner Stoffe in Lebensmitteln setzt in den meisten Fällen eine Isolierung des jeweiligen Stoffes oder eine Abtrennung störender Stoffe voraus. Sofern aber in einem Untersuchungsmaterial Stoffe verschiedenster Art analysiert werden sollen, muß die Trennung sich gegenseitig bei einem Nachweis störender Stoffe so erfolgen, daß keiner dieser Stoffe vor seinem Nachweis irreversibel verändert bzw. zerstört wird.

Zu den Trennmethoden, bei denen am wenigsten mit chemischen Umsetzungen oder Verlusten von Stoffen zu rechnen ist, gehören die Extraktion und die Verteilung, die das unterschiedliche Verhalten von Stoffen gegenüber Lösungsmitteln ausnutzen. Auch die Abtrennung durch Filtrieren, Dekantieren und Zentrifugieren kann ohne Stoffverlust durchgeführt werden. Letzteres bewirkt, in Verbindung mit emulsionsbrechenden Zusätzen wie Alkohol, außerdem eine Zerstörung von Emulsionen, d.h. zugleich auch die Trennung flüssiger Phasen.

Ein so in einzelne Phasen zerlegtes Gemisch kann innerhalb dieser Phasen durch Ionenaustausch und Adsorption in Stoffgruppen ähnlichen Verhaltens aufgetrennt werden, die den üblichen Nachweisverfahren der Papier- und Dünnschichtchromatographie sowie der Elektrophorese zugänglich sein sollten.

2.1 Trennversuche aufgrund von Löslichkeiten

Zu einer gemeinsamen Aufarbeitung aller in einem Lebensmittel enthaltenen Bestandteile kam nur eine Lösungsmittelkombination in Frage, mit der zugleich die Hauptbestandteile eines Lebensmittels: Wasser, Fett, Eiweiß, Kohlenhydrate und Mineralstoffe wie auch die darin enthaltenen Zusatzstoffe jeweils quantitativ gelöst oder ausgefällt werden konnten. Das Lösungsmittelsystem mußte darüber hinaus die Verteilung eines Stoffes über mehrere

Phasen weitgehend vermeiden, d.h. keine Verteilung der Lösungsmittel selbst innerhalb der einzelnen Phasen zeigen sowie in den einzelnen Phasen ein spezifisches Lösungsvermögen für jeden Stoff haben.

2.1.1 Lösungsversuche

Von den möglichen Zweiphasensystemen wurde die Löslichkeit einer festen Substanz in einer Flüssigkeit bzw. bei flüssigen Substanzen die Löslichkeit von zwei Flüssigkeiten ineinander geprüft.

2.1.1.1 Lösungsversuche mit verschiedenen Lösungsmitteln

Die Löslichkeit organischer und auch anorganischer Verbindungen lebensmitteleigener oder -fremder Art ist nach Angaben in der einschlägigen Literatur sehr unterschiedlich. So können beispielsweise 203 g Saccharose aber nur 0,29 g Benzoesäure in 100 g Wasser von 20°C gelöst werden (107). Andererseits sind 40,8 g Benzoesäure in 100 ml Äther von 25°C löslich (108), während Saccharose darin unlöslich ist.

Es zeigte sich, daß die Löslichkeit organischer Verbindungen mit an sich völlig verschiedenen Lösungseigenschaften in Mischungen von Aceton und Äthanol mit Wasser weniger unterschiedlich ist, wenn das Mischungsverhältnis Wasser : Organisches Lösungsmittel 1 : 2 bis 1 : 4 beträgt. Wasserlösliche Verbindungen, darunter auch Salze organischer Basen, waren in einer solchen Mischung noch ausreichend löslich, während fast alle wasserunlöslichen organischen Stoffe sich hierin glatt lösten. Geringe Löslichkeit in wäßrigem Aceton zeigten dagegen Lecithin und die nichtionogenen Emulgatoren, während pflanzliches Öl, Paraffin und die ionogenen Emulgatoren sich als praktisch unlöslich in dieser Lösungsmittelmischung erwiesen. Die Löslichkeit von Öl und ionogenen Emulgatoren in absolutem Äthanol war zum Teil stark temperaturabhängig (Tabelle 22).

2.1.1.2 Lösungsversuche mit Alginsäure und Carboxymethylcellulose

In saurer oder dialysierter Analysenlösung abgeschiedene, wasserunlösliche hochmolekulare Säuren (Alginsäure, Pektinsäure usw.) werden mit 1 proz. Natronlauge wieder in Lösung gebracht (5).

Bei der alkalischen Behandlung geht aber vorhandenes Casein ebenfalls in Lösung. Wurde jedoch das in Abschnitt 2.6.1 beschriebene Erhitzen unter Druck auf in neutraler, wässriger Lösung suspendierte Alginsäure und Carboxymethylcellulose angewendet, wurden Lösungen der Quellstoffe erhalten, aus denen die hochmolekularen Substanzen mit Äthanol wieder ausgefällt werden konnten (Tabelle 23). Casein störte unter diesen Bedingungen nicht.

2.1.1.3 Mischbarkeit von Fetten mit absolutem Äthanol

Fette, ausgenommen Ricinusöl und Traubenkernöl, lösen sich in absolutem Äthanol nur wenig, die Löslichkeit steigt mit zunehmendem Gehalt an freien Fettsäuren und Glyceriden niedermolekularer Fettsäuren an, wie z.B. bei Kokos- und Butterfett (20).

In eigenen Versuchen ließen sich Fette unterschiedlicher Art in absolutem Äthanol in der Wärme klar lösen und bei Abkühlung wieder daraus entfernen. Es wurden die Entmischungstemperaturen für einige Fettarten und die im Alkohol verbleibenden Fettmengen ermittelt (Tabelle 24).

2.1.2 Verteilungsversuche

Mit der Absicht, Fett und fettlösliche Stoffe in Fettlösungsmitteln aufzunehmen und wasserlösliche und in wässrigem Aceton oder Äthanol lösliche Stoffe in die wässrige Phase zu überführen,

wurde die Verteilung flüssiger und fester Stoffe zwischen zwei flüssigen Phasen untersucht.

2.1.2.1 Verteilungsversuche mit Lösungsmitteln

Der Verteilungskoeffizient C_1/C_2 von Äthylalkohol in dem Flüssigkeitspaar Wasser (C_1) - Diäthyläther (C_2) wurde mit 0,538 - 0,707 ermittelt (107). Für Aceton ist ein noch kleinerer Verteilungskoeffizient zu erwarten. Eine Lösungsmittelkombination mit Diäthyläther schied danach aus. Es wurde geprüft, inwieweit Petroläther (Siedepunkt bis etwa 40°C) hierzu verwendet werden kann.

Eigene Versuche mit Aceton und dem Flüssigkeitspaar Wasser - Petroläther ergaben z.B. bei einem Gehalt von 80 Vol. % Aceton, bezogen auf das Gemisch Wasser - Aceton, für Aceton einen Verteilungskoeffizienten von nahezu 1. Danach konnten ausschließlich aus Wasser und Aceton bestehende Mischungen zur Bildung der wäßrigen Phase bei fetthaltigen Lebensmitteln, d.h. bei Gegenwart von Petroläther, nicht verwendet werden. Versuche mit Äthylalkohol zeigten dagegen einen sehr günstigen, d.h. sehr hohen Verteilungskoeffizienten an. Das traf auch für die Verteilung einer Mischung aus Aceton und Äthanol in dem System Wasser - Petroläther zu. Es bestand danach die Möglichkeit, fetthaltige Lebensmittel mit dem Lösungsmittelsystem Wasser - Äthanol - Aceton - Petroläther aufzubereiten (Tabelle 25).

Ferner wurden Mischbarkeit und Verteilung von zuckerhaltigen Lösungsmitteln geprüft. Die Löslichkeit von Rohrzucker in 80 Vol. % Äthanol wird bei 14°C mit 6,7 g/100 ml und bei 40°C mit 13,1 g/100 ml angegeben (107).

Es wurde eine 50 proz. Zuckerlösung durch Zugabe von Äthanol oder Äthanol-Aceton bis zu einer Konzentration von 80 Vol. %, bezogen auf die Lösungsmittel und entsprechend einer Lösung

von 20 g Zucker und 100 ml Lösungsmittel, nicht entmischt, während die Zugabe von Aceton zu einer solchen Zuckerlösung bereits bei einem Acetongehalt der Lösungsmittel von 66,7 Vol. % eine Entmischung bewirkte. Die Löslichkeit der Saccharose in Äthanol oder Äthanol-Aceton wurde bei Gegenwart von Petroläther herabgesetzt. Eine Entmischung der wäßrigen Phase trat jedoch dann nicht ein, wenn entweder der Zuckergehalt vermindert, d.h. von einer 30 proz. Zuckerlösung ausgegangen wurde, entsprechend einer Lösung aus 9 g Saccharose und 100 ml Äthanol bzw. Äthanol-Aceton (80 Vol. %), oder der Äthanolgehalt des Wasser-Äthanol-Gemisches auf 77 Vol. % herabgesetzt wurde. Die Versuche zeigten bei Äthanol und Äthanol-Aceton einen von dem Extraktgehalt der wäßrigen Phase unabhängigen Verteilungskoeffizienten an. Der Verteilungskoeffizient C_1/C_2 von Aceton in dem System wäßrige Zuckerlösung (C_1) - Petroläther (C_2) war jedoch bei einem Acetongehalt des wäßrigen Lösungsmittels von 80 Vol. % praktisch 0 (Tabelle 26). Nach diesen Versuchen können stark zuckerhaltige, fettfreie Lebensmittel in 80 Vol. % Äthanol oder Äthanol-Aceton, aber nicht in einer ausschließlich aus Wasser - Aceton bestehenden wäßrigen Phase gelöst werden. Bei fett- und stark zuckerhaltigen Lebensmitteln darf aber der Äthanolgehalt, bezogen auf die Lösungsmittel der wäßrigen Phase, nicht mehr als 77 Vol. % betragen.

2.1.2.2 Verteilungsversuche mit Stoffen, die sowohl in wäßrigem Aceton als auch in Petroläther löslich sind

Untersuchungen ähnlicher Art sind mit Antioxydantien durchgeführt worden. Diese ließen sich aus Petroläther-Fett-Lösungen mit wäßrigem Alkohol ausschütteln (z.B. 26,109). BHT zeigte dagegen eine bevorzugte Löslichkeit in Fett und Fettlösungsmitteln und konnte mit wäßrigem Alkohol nicht isoliert werden (109). Verteilungsversuche mit Carotinoiden in dem Lösungsmittelsystem wäßriges Methanol - Petroläther zeigten die bevorzugte Löslichkeit dieser Farbstoffe in Petroläther (30).

Auch bei eigenen Versuchen ging BHT quantitativ in den Petroläther, selbst bei Abwesenheit von Fett. Die anderen Stoffe zeigten dagegen überwiegend eine bevorzugte Löslichkeit in wäßrigem Aceton, nur bei wenigen trat zwischen beiden Phasen eine etwa gleichmäßige Verteilung (o-Phenylphenol, Ceresrot G) oder eine bevorzugte Löslichkeit in Petroläther ein (Diphenyl, Bixin) (Tabelle 27).

2.1.2.3 Verteilungsversuche mit Ascorbylpalmitat

Ascorbylpalmitat wird zur quantitativen Bestimmung aus dem in Petroläther gelösten Fett mit Methanol (95 Vol. %) ausgeschüttelt (33). Auch liegen Angaben über die Ausschüttlung des Ascorbylpalmitats mit Äthanol (72 %) vor (110).

Die eigenen Versuche zeigten, daß Ascorbylpalmitat aus der Petrolätherlösung des Fettes auch mit Wasser-Aceton/Äthanol-Mischungen isoliert werden kann, die einen Wassergehalt von 33,3 Vol. % aufweisen (Tabelle 28).

2.1.2.4 Verteilungsversuche mit Emulgatoren in wasserhaltigen Lösungsmitteln

Emulgatoren sind außer durch Adsorptionschromatographie an Aluminiumoxidsäulen (6) und Kieselgelsäulen (111) auch durch Ausschüttungsverfahren von Fetten und fettlöslichen Stoffen getrennt worden. Der Emulgator ME 18, eine durch Addition von Maleinsäureanhydrid an die Glyceride konjugierter ungesättigter Fettsäuren entstehende DIELS-ALDER-Verbindung, und Emulgatoren auf der Grundlage veresterter Ricinolsäuren wurden aus dem Fett von Margarine mit absolutem Äthanol von 60°C ausgeschüttelt (112). Weinsäure- und Acetylweinsäureglycerid wurden ebenfalls aus Fett mit Methanol von 60°C ausgeschüttelt (16). Methanol diente auch zur Isolierung fettlöslicher Saccharosefettsäureester, während wasserlösliche mit Chloroform isoliert wurden (113). Aus Wurstfett konnte Zitronensäureglycerid mit Methanol

von 50 - 60°C ausgeschüttelt werden (17), während sich Weinsäurepolyglyceride durch ihre Unlöslichkeit in Methanol und Benzin von Monoglyceridestern und Fett trennen ließen (17). Aus dem Eindampfrückstand von Limonaden wurden Polyoxyäthylen-Sorbitanfettsäureester mit Aceton extrahiert (85), während Sorbitanfettsäureester in dem mit Benzol aus Süßwaren extrahierten Fett ohne weitere Auftrennung dünn-schichtchromatographisch nachgewiesen wurden (114). Aus Fruchtsaftgetränken ließen sich Fettsäuremono- und -diäthanolamide mit Methylenchlorid isolieren (115). Zur Isolierung von Weinsäureglycerid wurde auch Acetonitril vorgeschlagen (18).

In eigenen Versuchen konnte festgestellt werden, daß sich nichtionogene Emulgatoren und Lecithin bereits mit wäßriger Acetonlösung (66,7 Vol. % Aceton) von Triglyceriden trennen lassen. Dagegen zeigten Weinsäure- und Zitronensäureglycerid in Form der freien Säuren keine oder eine nur geringe Löslichkeit in wäßrigem Aceton und blieben nahezu quantitativ in der Fettphase (Tabelle 29).

2.1.2.5 Verteilungsversuche mit stark lipophilen Stoffen

Ein Teil der geprüften Stoffe ließ sich mit wasserhaltigen Lösungsmitteln aus Fett oder Fettlösungsmitteln nicht ausschüteln. Es wurde daher die Verwendbarkeit von wasserfreien Lösungsmitteln untersucht. Hierzu bot sich absolutes Äthanol durch die in Abschnitt 2.1.1.3 beschriebene Eigenschaft an, in der Wärme eine Lösung des Fettes und damit auch der darin gelösten Substanzen ohne zusätzliche Fettlösungsmittel zu gestatten und in der Kälte ohne Anwendung von Wasser wieder die Abtrennung der Hauptmenge des Fettes zu ermöglichen. Außerdem schien absolutes Äthanol nach eigenen orientierenden Versuchen mit anderen Lösungsmitteln (Methanol, Acetonitril) noch die besten Lösungseigenschaften auch für schlecht lösliche Stoffe wie beispielsweise Zitronensäureglycerid zu haben.

2.1.2.5.1 Verteilungsversuche mit Butylhydroxytoluol

Zur Isolierung von BHT aus Fett sind bisher im wesentlichen drei Methoden vorgeschlagen worden: Ausschüttlung mit Acetonitril aus der Petrolätherlösung des Fettes (116). Abtrennung durch Wasserdampfdestillation (117) und Isolierung durch Adsorption des Fettes an Kieselgel (109). Die Wasserdampfdestillation, bei der in der Ausführung nach W. WACHS und K. GERHARDT nur 20 % des vorhandenen BHT gefunden wurden (118), konnte durch Destillation aus wässriger Methanollösung verbessert und zur quantitativen Bestimmung ausgearbeitet werden (118). Bei Anwendung der Acetonitril-Extraktion konnten in konstanter Ausbeute nur 40 % des vorhandenen BHT gefunden werden (119). Als Nachteil dieses Extraktionsverfahrens wird die Mitextraktion von vorhandenem Monoglycerid angegeben (117).

Absolutes Äthanol wurde bisher als Extraktionsmittel für BHT nicht verwendet. Es zeigte sich aber, daß BHT bei Lösung und Abscheidung des Fettes mit absolutem Äthanol in der vorgenannten Weise nur zum Teil wieder in das Fett übergeht, zum anderen Teil aber in dem Alkohol gelöst bleibt und auf diese Weise angereichert werden kann.

2.1.2.5.2 Verteilungsversuche mit Emulgatoren in wasserfreien Lösungsmitteln

Zur Isolierung von Zitronensäure- und Weinsäureglycerid aus ungelöstem Fett war auch in der Wärme ein mehrfaches Ausschütteln mit Methanol erforderlich (16,17).

In eigenen Versuchen konnte festgestellt werden, daß absolutes Äthanol, das bisher zur Isolierung von Weinsäureglycerid und Zitronensäureglycerid nicht verwendet wurde, nach Lösung des Fettes in der Wärme bereits bei einmaliger Verteilung einen zum Nachweis ausreichenden Übergang der Emulgatoren in die sich beim Erkalten abscheidende Alkoholphase ermöglicht. Zugleich

können Restmengen von Lecithin und nichtionogenen Emulgatoren hierdurch aus dem Fett herausgelöst werden (Tabelle 29).

2.1.2.5.3 Verteilungsversuche mit Farbstoffen

Fettlösliche Farbstoffe werden zur Isolierung vorzugsweise an Aluminiumoxid adsorbiert und vorhandenes Fett mit Petroläther ausgewaschen (29,30,41). Diese Abtrennung wurde auch für den vorliegenden Trennungsgang für zweckmäßig gehalten (Abschnitt 3.3.3). Es wurde daher nur informatorisch das Lösungsverhalten eventuell vorhandener Farbstoffe in absolutem Alkohol geprüft. Es zeigte sich, daß die Carotinoide auch hierbei bevorzugt im Fett bleiben (Tabelle 30).

2.1.2.6 Verteilungsversuche mit Stoffgemischen und Lebensmitteln

Die Ergebnisse der Einzelversuche wurden mit Stoffmischungen und Lebensmitteln überprüft und bestätigt, Stearyl-gallat war im Gegensatz zu den anderen Gallaten auch in der Petrolätherphase nachweisbar (Tabelle 31).

2.2 Trennversuche durch Fällung

In den in Abschnitt 2.1 beschriebenen Versuchen hatten die zugegebenen Lösungsmittel Aceton und Äthanol die Funktion von Lösungsvermittlern. Es wurde nun geprüft, ob diese Lösungsmittel auch umgekehrt als Fällungsmittel dienen können, d.h. sich zur Ausfällung der Quellstoffe und zur Abtrennung störender, in wäßriger Lösung unlöslicher Lebensmittelbestandteile eignen. Die Ausfällbarkeit der Quellstoffe wurde in Modellversuchen und an Lebensmitteln des Handels geprüft, die Abtrennung störender Lebensmittelbestandteile ausschließlich bei Lebensmitteln des Handels.

2.2.1 Fällung von Quellstoffen

Zum Nachweis von Quellstoffen werden diese häufig aus ihren Lösungen durch Zugabe von Fällungsmitteln isoliert. Hierzu können insbesondere Bleiessig, Tannin, Pikrinsäure (5) und das Reagenz nach CARREZ dienen. Als Fällungsmittel für Quellstoffe wird auch Äthanol verwendet (5,120).

Es zeigte sich, daß Aceton, das bisher als Fällungsmittel für Quellstoffe allgemein nicht angewandt wird, bei einer Konzentration von 66,7 Vol. % aus schwefelsaurer Lösung einen Teil der pflanzlichen Quellstoffe, bei 80 Vol. % aber alle geprüften Quellstoffe pflanzlicher, synthetischer oder tierischer Herkunft quantitativ ausfällt. Damit ist es Äthanol überlegen: Auch bei 80 Vol. % Äthanol oder Aceton - Äthanol 1 + 2 konnte Methylcellulose und Dextrin nur teilweise ausgefällt werden (Tabelle 32).

2.3 Trennversuche durch Lösung und Fällung bei Lebensmitteln

Die Anwendbarkeit wässriger Aceton- bzw. Äthanol-Mischungen, zum Teil auch in Verbindung mit Petroläther, als Lösungs- und Fällungsmittel wurde bei Lebensmitteln des Handels geprüft.

2.3.1 Trennversuche bei verschiedenartigen Lebensmitteln

Durch Zugabe von 80 Vol. % Aceton-Äthanol bzw. 77 Vol. % Äthanol sowie Petroläther, bei Gegenwart von Fett, wurden aus verschiedenen Lebensmitteln nach Zentrifugieren klare, zur Aufarbeitung geeignete Analysenlösungen erhalten. Unlösliche Eiweißstoffe aus Wurst und Mayonnaiseemulsionen wurden getrennt und vorhandene Quellstoffe ausgefällt, während Konservierungsstoff und Süßstoff in Lösung gebracht wurden. Aus einer Obstkonserve konnte das vorhandene pflanzliche Gewebe zusammen mit Pektin abgetrennt werden. Auch Nugat ließ sich in eine aus Kakao- und Haselnußbestandteilen bestehende Phase, eine klare wässrige Phase

und eine Fettphase auftrennen. In der wäßrigen Phase fand sich Vanillin. Damit wurden in allen Fällen ausschließlich mit Alkohol, Aceton und gegebenenfalls Petroläther klare Analysenlösungen auch bei Lebensmitteln erhalten, bei denen eine Aufarbeitung in wäßriger Lösung ohne Anwendung von Klärmitteln (5) nicht möglich ist (Tabelle 33).

2.3.2 Trennversuche bei Reis

Zum qualitativen Nachweis einer Talkumbehandlung von Reis werden die Reiskörner mit Chloroform oder Wasser geschüttelt und der sich absetzende Niederschlag mikroskopisch auf Talkum geprüft (5). Zum Nachweis einer solchen Behandlung wurde auch vorgeschlagen, den Magnesiumgehalt der Asche zu bestimmen (121). Stärkesirup, der als Klebemittel für Talkum verwendet wird, soll durch den süßen Geschmack der wäßrigen Ausschüttlung und die Reduktion Fehlingscher Lösung erkannt werden (5). Quantitative Analysenmethoden sind nicht bekanntgeworden.

Bei eigenen Untersuchungen an Reisproben des Handels konnten mit der Kombination Wasser-Äthanol-Petroläther Fettbestandteile aus dem Reis abgetrennt und aus den Reiskörnern stammender Zucker (Saccharose) sowie Zucker aus einer Stärkesirupbehandlung in die wäßrige Lösung überführt und dort qualitativ und quantitativ bestimmt werden. Gleichzeitig konnte durch die Lösung der Zuckerbestandteile vorhandenes Talkum abgelöst, als solches gewogen und durch den Magnesiumgehalt identifiziert werden. Es war dadurch eine eindeutige Unterscheidung zwischen unbehandeltem und behandeltem Reis möglich, ferner konnten Aussagen über die Höhe der Zusatzstoffe gemacht werden (Tabelle 34).

2.4 Trennversuche durch Ionenaustausch an der Säule

Nach Abschnitt 2.1.2.2 hatte sich ergeben, daß die Mehrzahl aller Inhalts- und Zusatzstoffe in die wäßrige Phase überführt werden kann. Es wurde nun versucht, ob innerhalb dieser Phase

eine weitere Auftrennung der Stoffe möglich ist. Hierzu wurde vor allem der Ionenaustausch zur vollständigen Entfernung aller Kat- und Anionen herangezogen, im Anschluß daran erschien eine schonende Konzentrierung der Nichtelektrolyten möglich.

Für Lebensmittelinhalts- und -zusatzstoffe wurde die gemeinsame Auftrennung mit Hilfe des Ionenaustauschs offenbar noch nicht vorgeschlagen. Der Ionenaustausch wird bisher nur zur Abtrennung einzelner Stoffe oder Stoffgruppen verwendet.

2.4.1 Anionenaustauscherversuche

Stark basische Anionenaustauscher zeigen in verdünnten Lösungen folgende Affinitäten (122):

Sulfat > Zitrat > Bisulfit > Chlorid > Carbonat > Hydroxid.

Zur Adsorption organischer Säuren wurden stark basische Anionenaustauscher vorzugsweise in der Acetat- (64,123) oder Carbonat-Form (124,125) angewendet. Benzoesäure wurde auch von einem in der Chlorid-Form vorliegenden Austauscher adsorbiert (54). Die gleiche Form wurde auch zum Austausch von Saccharin und Cyclohexylsulfaminsäure verwendet (126,127).

Zur Desorption der Säuren wurden wäßrige 2 n Natriumcarbonatlösung (125), 0,5 n Natronlauge (128), Ammoniumcarbonatlösung (124), Natriumsulfatlösung (64,123) und wäßrig-alkoholische Natriumchloridlösung (54) verwendet. Saccharin und Cyclohexylsulfaminsäure wurden auch mit Ammoniaklösung aus flüssigem Anionenaustauscher eluiert (129). Durch Gradientenelution konnte zugleich mit der Desorption eine Auftrennung der einzelnen Säuren verbunden werden (130), schwache Säuren wurden auch durch Elution mit Essigsäure von starken Säuren getrennt, die erst mit Salzsäure desorbiert wurden (131).

Bei den eigenen Versuchen, in denen ein Austausch auch schwacher Säuren erfolgen sollte, mußte der Austauscher in einer Form angewendet werden, in der das Gegenion des Harzes auf jeden Fall

eine geringere Affinität als alle nachzuweisenden Ionen zeigte, d.h. der Austauscher mußte möglichst in der OH- oder auch in der CO_3 -Form eingesetzt werden. Eine andere Salzform kam auch schon deshalb nicht in Frage, weil das betreffende Anion dann von einem Nachweis in der Analysenprobe ausgeklammert werden mußte. Auch wäre dadurch die notwendige neutrale Reaktion in der Lösung der Nichtelektrolyten verhindert worden. Ausgetauschtes OH- oder CO_3 -Ion behindert aber den Nachweis der Neutralstoffe in einer von Kationen befreiten Lösung nicht.

Nach den bisher vorliegenden Erfahrungen verhalten sich die meisten Stoffe Ionenaustauschern gegenüber in Gemischen aus Wasser und wasserähnlichen Lösungsmitteln wie in Wasser allein. In nichtwässrigen Lösungsmitteln muß mit wesentlich niedrigeren Austauschgeschwindigkeiten gerechnet werden als in wässrigen Lösungen (132).

In einem Vorversuch wurde festgestellt, daß Weinsäure aus einer Mischung von Aceton und Wasser 2 + 1, wie sie bei den Verteilungsversuchen in Abschnitt 2.1.2.1 vorlag, an einem stark basischen Anionenaustauscher in der Hydroxid-Form quantitativ adsorbiert wurde. Dagegen konnte in einem anderen Versuch in schwach saurer, wässrig-acetonischer Lösung befindliches Neutralsalz mit einem schwach basischen Anionenaustauscher in der Hydroxid-Form nicht quantitativ ausgetauscht werden.

Ein in der OH-Form vorliegender, stark basischer Anionenaustauscher zeigte ein dem Ausschüttungsverfahren (133) analoges Verhalten. Nachteilig waren das nicht eindeutige Verhalten des Butylhydroxyanisols, das etwa nur zur Hälfte an der Säule haften blieb und die infolge der stark basischen Reaktion des Austauscherharzes bei Äthylvanillin sichtbaren Zersetzungserscheinungen. Als Eluierungsmittel wurden wässrige und wässrig-acetonische Salzlösungen verwendet, hierbei konnte die allgemeine Anwendbarkeit der nicht rein wässrigen und die begrenzte Anwendbarkeit der rein wässrigen Lösungen festgestellt werden. Eine Erfahrung, die auch

von anderer Seite gemacht wurde (132). Es zeigte sich auch, daß Teerfarbstoffe, Gallate, NDGA und Formaldehyd irreversibel am Anionenaustauscherharz haften bleiben (Tabelle 35).

Bei Versuchen mit stark basischem Anionenaustauscher in der Carbonat-Form zeigte auch dieser ein dem Ausschüttlungsverfahren (133) analoges Verhalten. Es wurden nur Verbindungen mit sauren Gruppen (Phosphorsäure, Benzoesäure, Saccharin, Cyclamat) aus wäßrig-acetonischer Lösung vollständig ausgetauscht, während Stoffe mit unterschiedlich sauren, phenolischen Gruppen entweder gar nicht (BHA), wenig (o-Phenylphenol) oder stark (Vanillin) zurückgehalten wurden. Möglicherweise muß dieses Verhalten auch darauf zurückgeführt werden, daß das Austauscherharz nach der CO_2 -Begasung nicht nur in der HCO_3^- sondern auch in der CO_3^{2-} -Form vorliegt und dadurch sowohl stärker als auch schwächer saure Phenole verzögert eluiert werden. Infolge der verminderten Basizität traten nunmehr keine Zersetzungerscheinungen bei Äthylvanillin auf. Nichtelektrolyte wie Dulcin, Thioharnstoff und Riboflavin passierten die Säule ohne Behinderung.

Die Desorption der Säuren konnte bei dem in der Carbonat-Form vorliegenden Austauscher nicht mehr mit acetonischer Neutralsalzlösung erfolgen wegen der hierbei entstehenden und in wäßrigem Aceton unlöslichen Carbonate. Mit dem Sulfation in Form einer schwefelsauren, wäßrigen Acetonlösung konnten jedoch alle anderen Säuren aus dem Austauscherharz verdrängt und in Lösung gebracht werden (Tabelle 36).

2.4.2 Versuche mit stark saurem Kationenaustauscher

Kationenaustauscher in der H-Form binden in saurer Lösung alle natürlichen Aminosäuren, der Austausch ist auch in 80 proz. Alkohol vollständig (134). Derartige Austauscher werden daher auch vorzugsweise zur Adsorption von Aminosäuren verwendet (124,125,136). Ein solcher Austausch ist auch für Ammoniak aus

neutraler oder schwach saurer Lösung vorzuziehen, wenn die bei der Destillation des Ammoniaks auftretenden Schwierigkeiten vermieden werden sollen (135). Auch Opiumalkaloide und Chinin (132) sowie Cholin (136) wurden auf diese Weise ausgetauscht. Zur Elution der Aminosäuren wird der Austauscher entweder mit Salzsäure (128) oder Ammoniaklösung (125,136) behandelt, Ammoniak (135) und Cholin (136) werden auch mit wäßriger, Chinin (132) mit alkoholischer Salzsäure eluiert.

Bei eigenen Versuchen wurden Glutaminsäure, Cholin, Chinin und Ammoniumionen einzeln oder als Mischung aus Aceton-Wasser 2 + 1 quantitativ ausgetauscht, während alle anderen Stoffe die Säule ungehindert passierten oder nur wenig verzögert eluiert wurden. Zur gemeinsamen Elution aller Stoffe war eine acetonische Neutralsalzlösung auch hier zweckmäßiger als eine rein wäßrige Lösung, die ein Nachwaschen des Harzes mit wäßrigem Aceton erforderte. Ammoniak und Chinin konnten mit 100 ml, Glutaminsäure und Cholin mit 200 ml der Neutralsalzlösung desorbiert werden (Tabelle 37).

2.4.3 Trennversuch einer Stoffmischung

Eine stark verdünnte Mischung aus dreizehn neutralen Stoffen und Verbindungen mit sauren und phenolischen Gruppen wurde am Kationenaustauscher und am Anionenaustauscher (CO_3 -Form) behandelt. Die in den vorangegangenen Einzelversuchen gewonnenen Ergebnisse wurden im allgemeinen bestätigt, Stoffe mit phenolischen Gruppen ließen sich aus dem Anionenaustauscher stärker auswaschen. Bei Glukonsäure-delta-lacton wurde das Gleichgewicht Säure - Lacton während des Säulendurchlaufs weitgehend auf die Seite der Säure verschoben (Tabelle 38).

2.4.4 Versuche mit einzelnen Stoffen und Stoffgruppen

Diese Versuche dienten der Sicherung und der Ergänzung der bisher erhaltenen Ergebnisse. Es wurden folgende Stoffe untersucht:

p-Hydroxybenzoesäureester: In diesem Versuch wurden 20 % der Carbonat-Form des Austauschers durch die Hydroxid-Form ersetzt, dabei blieb etwa die Hälfte der Ester am Austauscher haften (Tabelle 39).

Propylgallat und Nordihydroguajaretsäure: In halbquantitativer Versuchsanordnung wurde festgestellt, daß Propylgallat und NDGA beim Durchgang durch den Kationenaustauscher keine Verluste erleiden. Dagegen trat am Anionenaustauscher wiederum vollständige und irreversible Adsorption ein (Tabelle 40). Diese Antioxydantien können in der Analysenlösung daher nur vor der Anionenaustauscherbehandlung analysiert werden.

Glukose: Über die irreversible Adsorption von Zucker an der Hydroxid-Form eines stark basischen Anionenaustauschers wurde in der Literatur bereits berichtet (123). Eigene Versuche bestätigten diese Feststellung, zugleich zeigte sich, daß die Carbonat-Form des Austauschers diesen Nachteil nicht aufweist (Tabelle 41).

Phosphate: Die papierchromatographische Identifizierung der einzelnen Phosphate ist in der verdünnten Austauschereleuatlösung nicht möglich. Bei einer Konzentrierung der Lösung, die wegen gegebenenfalls vorhandener, flüchtiger Säuren im alkalischen Milieu erfolgen muß, tritt aber z.T. eine Kondensierung des Orthophosphats zu Pyrophosphat ein (Tabelle 42). Originäres Pyrophosphat muß daher direkt, d.h. außerhalb des Trennungsganges nachgewiesen werden.

Emulgatoren: Nach Abschnitt 2.1.2.4 hatte sich ergeben, daß auch nichtionogene Emulgatoren und Lecithin in die wäßrig-ace-tonische Phase überführt werden können, während z.B. Weinsäureglycerid nur zu einem geringen Teil darin löslich ist. In diesem Versuch wurde das Verhalten der in Lösung gegangenen Anteile am Anionenaustauscher untersucht. Wie zu erwarten war, blieb Weinsäureglycerid fast vollständig am Austauscher haften, während die Hauptmenge der anderen Emulgatoren die Säule pas=

sierte. Größere Verluste traten bei Sorbitanfettsäureester auf. Da jedoch im Anionenaustauschereluat keine positive Sorbitanreaktion erhalten wurde, muß es sich bei dem am Austauscher haftengebliebenen Anteil um freie Fettsäuren gehandelt haben (Tabelle 43). Nach diesem Versuchsergebnis können Lecithin und die nichtionogenen Emulgatoren in der ionenfreien, d.h. von möglichen Störfaktoren weitgehend befreiten Lösung analysiert werden. Weinsäureglycerid muß dagegen in der unbehandelten Lösung nachgewiesen werden.

Ascorbylpalmitat: Wie Weinsäureglycerid blieb auch Ascorbylpalmitat zum großen Teil am Anionenaustauscher haften. Der Nachweis dieses Stoffes kann daher nur in der noch unbehandelten Lösung erfolgen.

2.4.5 Ermittlung der Austauscherkapazitäten

Zur Vermeidung größerer Austauscher- bzw. Säulenvolumina erschien die Verwendung von Austauschern mit möglichst hoher Kapazität vorteilhaft. Es erwiesen sich die selbstaufbereiteten Ionenaustauscher der Firma Merck einem Anionenaustauscher in der Carbonat-Form und einem Kationenaustauscher in der H-Form (Serdolit-Blau und -Rot der Firma Serva, Heidelberg) überlegen.

2.4.6 Reinheitsprüfung von Anionenaustauscherharzen

Für das Anionenaustauscherharz III (Merck) wie auch für das Präparat Serdolit-Blau sind analytische Reinheitsgrade angegeben. Aus beiden Harzen wurde aber mit schwefelsaurem, wäßrigem Aceton eine kristalline Substanz herausgelöst, die sich in der Analytik wie Benzoesäure verhielt und offenbar eine monomere Verunreinigung der Harze darstellt. M.A. FORD (54) berichtete von einer ähnlichen Verunreinigung in dem Austauscherharz DOWEX 1 - X10, die mit alkoholischer Neutralsalzlösung eluiert wurde und die spektrophotometrische Bestimmung der Benzoesäure störte. Eigene Versuche ergaben, daß die im Anionenaustauscher

III enthaltene Verunreinigung mit mineralisaurem, wäßrigem Aceton quantitativ herausgelöst werden konnte. Das schwefelsaure Acetoneluat aus einem in dieser Weise vorgereinigten und in die Carbonat-Form überführten Harz erwies sich als frei von dieser Verunreinigung.

2.4.7 Versuche zur quantitativen Bestimmung von Stoffen mit Hilfe des Ionenaustauschs in wäßrig-acetonischer Lösung

Im Idealfall sollte ein im Trennungsgang nachgewiesener Stoff in derselben Analysenlösung quantitativ bestimmbar sein. Die Möglichkeit hierzu wurde bei einigen, in Lebensmitteln besonders häufig anzutreffenden Stoffen, deren Gehalt auch quantitativ bestimmt wird, überprüft.

2.4.7.1 Bestimmung der Ameisensäure

Bei allen quantitativen Bestimmungsverfahren (vgl. Abschnitt 1.2.5.2.2) muß die Ameisensäure zuvor abgetrennt werden. Bei der von H. FINCKE (5) vorgesehenen Abtrennung durch Destillation der Ameisensäure aus saurer Lösung werden aber für zuckerhaltige Erzeugnisse durch Zersetzungsprodukte des Zuckers zu hohe Werte erhalten. So wurde bereits bei Wasserdampfdestillation einer angesäuerten Saccharoselösung Ameisensäure im Destillat gefunden (137,138). Es wird vermutet, daß die in saurer Lösung aus Saccharose entstehende Fruktose über Hydroxymethylfurfurol in Lävulinsäure und Ameisensäure zerfällt (138). Zur Vermeidung einer solchen Zersetzung wurde eine Vakuumdestillation der Ameisensäure bei 40°C aus wäßriger Lösung vorgeschlagen, wobei nicht überdestillierte Ameisensäure durch anschließende azeotrope Destillation mit Toluol übergetrieben wird und danach noch zurückbleibende Restmengen durch Addition von 10 % des ermittelten Wertes berücksichtigt werden (137). Die Nachteile der Destillation weist die Perforation mit Äther nicht auf, die allerdings wie die Destillation einen erheblichen Zeitaufwand erfordert. Aber auch mit Perforation und nachfolgen=

der kolorimetrischer Bestimmung wurden in nicht konservierten Orangensäften scheinbare Ameisensäuregehalte von 20 - 120 mg/Kilogramm gefunden (139) und durch Perforation einer angesäuerten, ohne Ameisensäure hergestellten Zuckerlösung mit dem Reduktionsverfahren 7,3 - 8,7 mg Ameisensäure/l ermittelt (138). Die Bestimmung originärer Ameisensäure scheint danach nur mit einem Verfahren möglich zu sein, das eine Einwirkung von Säure auf Saccharose ausschließt, wie beispielsweise der Ionenaustausch. Dieser wurde bei Obstsaften und Weinen, die zuvor mit Bleiacetatlösung geklärt worden waren, an einem stark basischen Anionenaustauscher in der Acetat-Form durchgeführt und anschließend im Eluat die Ameisensäure nach FINCKE bestimmt (140).

Nach diesen bereits vorliegenden Erfahrungen mußte die quantitative Bestimmung der mit Hilfe des Ionenaustauschs im Trennungsgang isolierten Ameisensäure möglich sein.

2.4.7.1.1 Versuche zur quantitativen Bestimmung

Die Verwendbarkeit der Reduktionsmethode nach FINCKE und der kolorimetrischen Bestimmung in der Ausführung nach O.R. RECHE (58) wurde in Modellversuchen überprüft. Die kolorimetrische Methode erwies sich zur Bestimmung der Ameisensäure im Anionenaustauschereluat als unbrauchbar, während sowohl im Eluat der Acetat-Form wie auch der Carbonat-Form des Austauschers die vorgelegte Ameisensäuremenge mit der Reduktionsmethode wiedergefunden wurde (Tabelle 44). Die Reduktionsmethode erfordert allerdings als gravimetrische Methode größere Ameisensäuremengen in der Untersuchungsflüssigkeit als dies bei einer kolorimetrischen Methode notwendig gewesen wäre.

Die Löslichkeit der Ameisensäure ist in Wasser und Äther etwa gleich groß. Bei der Aufarbeitung des Anionenaustauschereluates nach Abschnitt 3.2.2.2a bleibt Ameisensäure zum großen Teil in der wäßrigen Lösung und kann daher nur durch Perforation oder,

mit weniger Zeitaufwand, aus dem angesäuerten Trockenrückstand quantitativ mit Äther extrahiert werden. Die hier auftretenden Verluste betrugen in entsprechenden Modellversuchen mindestens 11 % (Tabelle 44).

Nach diesen Versuchsergebnissen kann Ameisensäure aus wäßrig-acetonischer Lösung quantitativ an der Carbonat-Form des stark basischen Anionenaustauschers adsorbiert und auch quantitativ aus dem Harz eluiert werden. Die exakte Ermittlung des Ameisensäuregehaltes im Rahmen des Trennungsganges würde aber die Anwendung einer Methode, beispielsweise auch enzymatischer Art, voraussetzen, die die Bestimmung der Ameisensäure in kleineren Mengen des Austauschereeluates erlaubt. So aber sind durch die für den Nachweis und die Bestimmung auch anderer Säuren erforderliche Aufarbeitung gewisse Ameisensäureverluste möglich und dadurch nur halbquantitative Aussagen über den Ameisensäuregehalt zu machen.

2.4.7.1.2 Ergebnisse bei Lebensmitteln

In verschiedenartigen, ohne Ameisensäure hergestellten Lebensmitteln wurde im Trennungsgang, d.h. nach Isolierung der Ameisensäure durch Ionenaustausch und Ätherextraktion des Anionenaustauschereeluates, ein scheinbarer Ameisensäuregehalt von 30 - 150 mg/Kilogramm festgestellt. Andere Lebensmittel, deren Herstellungsweise nicht bekannt wurde, und die danach gegebenenfalls geringe Mengen zugesetzter Ameisensäure enthalten konnten, wiesen 0 - 210 mg Ameisensäure/Kilogramm auf. In ameisensäurehaltigen Gurken wurde ein um 7 % niedrigerer Ameisensäuregehalt ermittelt als nach dem Destillationsverfahren.

Der Blindwert oder der scheinbare Ameisensäuregehalt liegt daher bei dieser Aufarbeitung in der gleichen Größenordnung, wie er bei der direkten Perforation von Fruchtsäften ermittelt wurde (139). Auch war die Höhe des Blindwertes offensichtlich unabhängig vom Zuckergehalt der Lebensmittel. So wurden in

einem stark zuckerhaltigen Sirup 20 mg und in einer zuckerfreien Salamitauchmasse 30 mg Ameisensäure/Kilogramm festgestellt. Die dem Anionenaustausch vorangehende Kationenaustauscherbehandlung scheint danach im Gegensatz zur Destillation keine Zersetzung der Zucker zu verursachen, die über eine höchstens geringfügige Invertierung der Saccharose hinausgeht (Tabelle 45).

2.4.7.2 Bestimmung der Sorbinsäure und der Benzoesäure

Nach den Abschnitten 2.4.1.4 und 2.4.3 hatte sich die quantitative Adsorption aller Säuren an der Carbonat-Form des Anionenaustauschers ergeben. Es wurde untersucht, ob auch die Desorption quantitativ verläuft und auf welche Weise eine quantitative Bestimmung in dem Anionenaustauschereluat durchgeführt werden kann.

2.4.7.2.1 Versuche mit Sorbinsäure

Die für Sorbinsäure angegebenen Bestimmungsverfahren (vgl. Abschnitt 1.2.5.1.2) sehen vor der quantitativen Bestimmung eine Isolierung der Sorbinsäure durch Wasserdampfdestillation vor.

Eigene Versuche, in denen das kolorimetrische Verfahren (57) angewendet wurde, ergaben, daß Sorbinsäure aus wäßrig-acetonischer Lösung quantitativ an der Carbonat-Form des Anionenaustauschers adsorbiert und mit schwefelsaurem, wäßrigem Aceton wieder quantitativ eluiert werden kann. Bei Ausschüttlung des wäßrigen Austauschereluates mit Äther verbleibt ein geringer Restgehalt der Sorbinsäure in der wäßrigen Lösung, der aber bei der Ätherextraktion des angesäuerten Trockenrückstandes erfaßt wird. Überraschend war die Feststellung, daß bei Eindunsten des Ätherextraktes, Lösung in 0,1 n Natronlauge und Neutralisation mit 0,1 n Salzsäure zu niedrige Werte gefunden wurden, und zwar um so niedriger, je mehr Natronlauge zum Lösen verwendet wurde (Tabelle 46). Dagegen war die Bestimmung quantitativ, wenn die

Ätherlösung der Sorbinsäure ohne weitere Zusätze mit warmem Wasser vermischt wurde (Tabelle 47).

2.4.7.2.2 Ergebnisse bei Lebensmitteln

Während für Sorbinsäure in der Wasserdampfdestillation nach H. SCHMIDT eine verhältnismäßig einfache Abtrennungsmethode vorliegt, ist eine Abtrennung der Benzoesäure auf diese Art nur zum qualitativen Nachweis geeignet. Zur quantitativen Bestimmung wird die wäßrige Untersuchungslösung, die in den meisten Fällen einer Klärung unterzogen werden muß, zur Isolierung der Benzoesäure mit Äther extrahiert oder mit Chloroform perforiert (45). Der Ionenaustausch an DE-ACIDITE/FF zur Isolierung und quantitativen Bestimmung von Benzoesäure in Getränken wurde dagegen bereits von M.A. FORD (54) verwendet. Die dadurch vorliegenden positiven Erfahrungen in der Isolierung von Benzoesäure mit Hilfe des Ionenaustauschs berechtigten zu der Annahme, daß auch bei der hier angewendeten Form des Ionenaustauschs eine quantitative Bestimmung der Benzoesäure möglich sein müßte.

Von den vorliegenden titrimetrischen, spektrophotometrischen und kolorimetrischen Methoden wurde bei eigenen Versuchen zur Überprüfung der quantitativen Bestimmungsmöglichkeit der Benzoesäure im Rahmen des Trennungsganges die als weitgehend spezifisch anzusehende kolorimetrische Methode von P. SPANYAR, E. KEVEI und M. KISZEL (56) ausgewählt. Nach den Angaben der Autoren sind insbesondere bei Gegenwart von Saccharin, Salizylsäure, p-Chlorbenzoesäure und p-Hydroxybenzoesäure keine Störungen zu erwarten.

In verschiedenen Lebensmitteln wurde die Sorbinsäure auf die in vorstehendem Abschnitt genannte Weise im Ätherextrakt des Anionenaustauschereeluates bestimmt. Zur Bestimmung der Benzoesäure wurde ein Teil des Ätherextraktes verdunstet und der Rückstand ohne weitere Behandlung nitriert und kolorimetriert (56).

Außerdem wurde die Sorbinsäurebestimmung in denselben Lebensmitteln nach Wasserdampfdestillation (57) und die Benzoessäurebestimmung nach Ausschüttlung der gegebenenfalls geklärten Untersuchungslösung mit Äther (56) wiederholt. In allen Fällen wurden übereinstimmende bzw. im Rahmen der bei diesen Bestimmungen üblichen Abweichungen liegende Werte erhalten (Tabelle 48).

2.4.7.3 Bestimmung von Zucker

Die Bestimmung des Zuckers in Lebensmitteln ist, insbesondere bei fett-, eiweiß- und quellstoffhaltigen Lebensmitteln, erst nach Klärung der Untersuchungslösung möglich (5). Da die auf diese Weise erhaltenen Lösungen außer Resten der Klärmittel auch Mineralstoffe und organische Säuren aus den Lebensmitteln enthalten, ist der Gesamtzuckergehalt in solchen Lösungen nur durch Addition der einzeln bestimmten Zuckerarten zu errechnen. Der Extraktgehalt einer im Trennungsgang aufgearbeiteten, ionenfreien, wäßrigen Lösung wird dagegen nur vom Zuckergehalt bestimmt, sofern andere wasserlösliche Neutralstoffe in wesentlichen Mengen nicht vorhanden sind.

In verschiedenen Lebensmitteln wurde der Zuckergehalt außerhalb des Trennungsganges durch einzelne Zuckerbestimmungen oder durch Bestimmung des Gesamtextraktes ermittelt und diese Werte mit dem in denselben Lebensmitteln im Rahmen des Trennungsganges refraktometrisch ermittelten Extraktgehalt verglichen. Die Ergebnisse, die durch Modellversuche nicht überprüft wurden, geben einen Hinweis darauf, daß der Zuckergehalt eines Lebensmittels, das im Trennungsgang ohnehin aufgearbeitet wurde, durch eine Extraktbestimmung der ionenfreien Lösung in vielen Fällen einfacher festgestellt werden kann, als durch zusätzliche Bestimmung der einzelnen Zuckerarten in dem Lebensmittel direkt und fehlerfreier, als durch Extraktbestimmung einer ionenhaltigen Untersuchungsflüssigkeit (Tabelle 49).

2.5. Trennversuche durch Adsorptionschromatographie

Die in der Petrolätherphase verbliebenen Stoffe waren fast alle nach den Verteilungsversuchen mit wasserfreien Lösungsmitteln in Abschnitt 2.1.2.5 in absolutem Äthanol aus dem Fett anzureichern, eine Ausnahme bildeten die Carotinoidfarbstoffe. Zur weiteren Auftrennung der fetthaltigen Mischung schien die Adsorptionschromatographie geeignet zu sein.

Fett und fettlösliche Stoffe werden adsorptionschromatographisch vorzugsweise an Aluminiumoxid- und Kieselgelsäulen getrennt. So wurden lipophile Salbenbestandteile an Aluminiumoxidsäulen fraktioniert (6). Mit Aluminiumoxid wurden auch Paraffin aus fettlöslichen Rosinenbestandteilen (21) und Diphenyl aus dem ätherischen Öl von Orangenschalen (75) isoliert. Kieselgelsäulen wurden erstmals von H.P. KAUFMANN zur Trennung von Fetten und partiell veresterten Glyceriden angewendet (141). Ihre Verwendbarkeit zur Trennung von Wachsen, Fett und Fettalkoholen sowie zur Abtrennung von Emulgatoren wurde beschrieben (6,111). H. MEYER adsorbierte Fett während einer Stunde an einer Kieselgelsäule und konnte nicht adsorbiertes BHT mit Cyclohexan unter leichtem Überdruck herauswaschen (109). Die Einheitsmethoden der Deutschen Gesellschaft für Fettforschung sehen eine Bestimmung des Paraffingehaltes in Wachsen mit Hilfe der Kieselgelsäule vor (142). In ähnlicher Weise wurde auch von G. KRUMMEL ein Paraffingehalt auf Rosinen nachgewiesen (22,143).

Die Anwendbarkeit der genannten Adsorbentien für die nach vorliegender Aufarbeitung vom Fett noch zu trennenden Stoffe war daher zu prüfen.

2.5.1 Vorversuche mit verschiedenen Sorbentien

Die Adsorptionsfähigkeit verschiedener Sorbentien wurde mit verschiedenartigen Stoffen untersucht. Die Desorption der Stoffe erfolgte fraktioniert, wobei das von unserem Arbeitskreis (6,111)

angewendete Verfahren übernommen wurde, die Lösungsmittel im Sinne der elutropen Reihe zu wechseln.

Aluminiumoxid zeigte keine Adsorptionswirkung auf BHT und pflanzliches Öl. Die Adsorptionswirkung auf o-Phenylphenol war dagegen so stark, daß dieser Stoff mit den angewendeten Lösungsmitteln nur spurenweise in Lösung ging (Tabelle 50). Diese starke Affinität des o-Phenylphenols an Aluminiumoxid stellten bereits H. BÖHME und G. HOFMANN fest, sie konnten o-Phenylphenol nur mit heißem Isopropanol von diesem Adsorbens lösen (75).

Demgegenüber zeigten gleiche Gewichtsmengen Kieselgel eine vergleichsweise bessere Adsorptionswirkung auf die gleiche Ölmenge. BHT wurde, im Gegensatz zu dem von H. MEYER beschriebenen Verfahren, quantitativ adsorbiert, wodurch eine Trennung von Paraffin ermöglicht wurde. Die Desorption der Stoffe erfolgte in den meisten Fällen innerhalb eines begrenzten Bereiches, ausgenommen bei Öl und Bixin, die in mehreren Fraktionen etwa gleichmäßig verteilt waren (Tabelle 51).

Nach dem Ergebnis des Vorversuchs erschien für das vorliegende Trennproblem die Adsorptionschromatographie an Kieselgelsäulen zweckmäßig zu sein. Für die nachfolgenden Trennversuche wurde daher ausschließlich Kieselgel (Woelm) verwendet. Bei Fraktionierungen in Gegenwart von Fett wurde entsprechend den Angaben von J.J. WREN (144) eine Anwendung von mehr als 50 mg Fett/g Adsorbens vermieden. Auch wurden die zu trennenden Stoffe nicht mehr als Lösung auf die Säule gebracht, sondern als trockenes Adsorpt, das durch Eindampfen der Analysenlösung bei Gegenwart von Kieselgel gewonnen wurde.

2.5.2 Versuche mit Butylhydroxytoluol

Nach dem Verteilungsversuch in Abschnitt 2.1.2.5.1 ließ sich BHT aus Fett in absoluten Äthanol überführen. Zur Chromatographie an der Säule mit Hilfe der elutropen Reihe mußte der

Alkohol entfernt werden. Die bei verschiedenen Eindampfarten auftretenden Verluste an BHT wurden in halbquantitativer Versuchsausführung festgestellt. Verluste traten danach auch bei schonendem Eindunsten des Äthanol auf, während beispielsweise das Eindunsten einer ätherischen Lösung ohne Verlust blieb (Tabelle 52). Die im Vorversuch festgestellte quantitative Adsorption von BHT an der Kieselgelsäule bestätigte sich auch bei Gegenwart von Fett. BHT wurde weder mit Petroläther noch mit Cyclohexan ausgewaschen, dagegen bei Abwesenheit von Fett nahezu quantitativ mit Tetrachlorkohlenstoff desorbiert. Bei Gegenwart von Fett war die mit Tetrachlorkohlenstoff eluierte BHT-Menge etwas geringer, aber frei von Fettbestandteilen. Das restliche BHT wurde mit Trichloräthylen ausgewaschen. In dieser Fraktion begann aber auch die Elution von Fettbestandteilen, die den Nachweis störten. Der in Abschnitt 2.1.2.5.1 mit 50 mg BHT durchgeführte Verteilungsversuch wurde mit 0,1 mg BHT wiederholt und durch die Fraktionierung an der Säule ergänzt. Das zugegebene BHT, dessen Zusatz einer Menge von 5 mg in einem Kilogramm Fett entsprach, konnte zwar nicht quantitativ wiedergefunden, aber deutlich nachgewiesen werden (Tabelle 53).

2.5.3 Versuche mit Emulgatoren

Emulgatoren werden nach der Petrolätherbehandlung der Kieselgelsäule mit Äther und Methanol eluiert (111).

Auch bei eigenen Versuchen, in denen Emulgatoren bei Abwesenheit von Fett mit einer größeren Zahl von Lösungsmitteln an der Kieselgelsäule behandelt wurden, trat eine Elution aller Emulgatoren erst mit Äther und Methanol ein (Tabelle 54). Der in der Ätherfraktion vorhandene Emulgatoranteil konnte jedoch bei Gegenwart von Fett und wenig Emulgator ohne weitere Aufarbeitung nicht nachgewiesen werden. Dies war aber in allen Fällen im Methanoleluat möglich. Die bei den Verteilungsversuchen in den Abschnitten 2.1.2.4b und 2.1.2.5.2f nicht in die wässrige Phase, aber in den absoluten Äthanol übergegangenen Emulgatoranteile

wurden nach Fraktionierung an der Kieselgelsäule im Methanol= eluat wiedergefunden (Tabelle 55).

2.5.4 Versuche mit Farbstoffen, Emulgatoren, Antioxydantien und Lebensmitteln

Diese Versuche, die zum Teil bei Gegenwart komplex zusammenge= setzter Lebensmittel wie Mayonnaise und Gebäck durchgeführt wur= den, bestätigten die zuvor in Einzelversuchen oder ausschließlich bei Gegenwart von Öl durchgeführten Versuche, zugleich wurden hierdurch die Ergebnisse in Abschnitt 2.1.2.6 über Verteilungs= versuche mit Stoffgemischen und Lebensmitteln ergänzt. Caro= tinoide ließen sich mit Benzol und Äther von der Säule lösen und konnten auf diese Weise dem üblichen Nachweis zugeführt werden (Tabelle 56).

2.5.5 Versuche mit Fruchtbehandlungsstoffen

Der Nachweis der Fruchtbehandlungsstoffe setzt ihre Abtrennung aus den Fruchtschalen voraus. Die meisten der bisher mitgeteil= ten Verfahren wenden hierfür die von R.G. TOMKINS und F.A. ISHER= WOOD (145) erstmals beschriebene Abtrennung des Diphenyls durch Wasserdampfdestillation an, die schon bald durch Verwendung kon= tinuierlich wirkender Apparaturen verbessert wurde (146). Wäh= rend Diphenyl hierbei innerhalb 45 Min. (75) oder 2 Stunden (147) quantitativ übergetrieben werden kann, ist das schwererflüchtige o-Phenylphenol hiermit wiederum nicht quantitativ zu erfassen, sondern kann nur mit einer normalen Wasserdampfdestillation übergetrieben werden (75), wozu 2 l Destillat (148) oder 6 Stun= den Destillationsdauer (147) erforderlich sind. Während o-Phenyl= phenol im Destillat als wasserlösliches Natriumsalz vom ätheri= schen Öl getrennt werden kann (z.B. 148), muß das ätherische Öl zur Bestimmung von Diphenyl auf andere Weise entfernt werden. Das kann durch oxydative Zerstörung des ätherischen Öls mit kon= zentrierter Schwefelsäure (145), Kaliumpermanganat und Eisessig (149) oder beiden Reinigungsarten nacheinander (73) geschehen.

Anstelle dieser langwierigen und infolge der konzentrierten Säuren auch unangenehmen Reinigungsarten, die bei Verwendung konzentrierter Schwefelsäure darüber hinaus auch zu Verlusten führen (150), wurde auch die Reinigung durch Adsorption angewendet und zwar in Form einer adsorptiven Filtration an der Säule über Aluminiumoxid Woelm, sauer (75), oder dünnschichtchromatographisch auf Kieselgel (147). Eine säulenchromatographische Abtrennung des Diphenyls oder auch anderer Fruchtbehandlungsstoffe an Kieselgel wurde bisher nicht durchgeführt.

Während mit Hilfe der Destillation Diphenyl, o-Phenylphenol und auch Diphenylamin (151) erfaßt werden können, ist der Nachweis von Thioharnstoff und Farbstoffen nur mit Hilfe von Extraktionsmethoden möglich. Die Extraktion von Zitrusfruchtschalen mit Dichlormethan zum Nachweis von Diphenyl und o-Phenylphenol wurde erstmalig von E. BOHM angewendet (70) und zum Nachweis für Diphenylamin (71) und Thioharnstoff (72) erweitert. Der Nachweis des in Dichlormethan nicht löslichen Thioharnstoffs erforderte die Anwendung einer weiteren Extraktionslösung. Hierzu wurde die von W.O. WINKLER (152) beschriebene Essigester-Aceton-Mischung verwendet. Dieses Lösungsmittelgemisch eignete sich jedoch nicht auch zur Extraktion von Diphenyl und o-Phenylphenol wegen der hiermit extrahierten störenden Bestandteile aus den Fruchtschalen (72).

Die bisher mitgeteilten Extraktionsmethoden enthalten keine Hinweise auf die quantitative Bestimmungsmöglichkeit der auf diese Weise abgetrennten Fruchtbehandlungsstoffe oder die in dieser Richtung geführten Versuche hatten keinen Erfolg (146). Auch werden, während der qualitative Nachweis im allgemeinen von den Schalen ausgeht, zur quantitativen Bestimmung der Fruchtbehandlungsstoffe in fast allen Fällen die ganzen Früchte der Wasserdampfdestillation unterworfen, wodurch Einwaagen von 100 - 200 g bei Diphenyl (75,147) und sogar 300 - 400 g bei o-Phenylphenol (75) erforderlich sind. Dies ist insofern überraschend, als Diphenyl bekanntermaßen in dem ätherischen Öl der Schale gelöst

bleibt und im Fruchtfleisch bisher noch nicht nachgewiesen werden konnte. Das gilt auch für o-Phenylphenol, das nur im Fruchtfleisch schalengeschädigter Früchte nachgewiesen werden konnte, nicht aber in den gesunden Früchten (153). Diese Tatsache wird nur in wenigen Arbeiten berücksichtigt (z.B. 151,154).

Mit dem Prinzip vorliegender Arbeit war nur das Extraktionsverfahren vereinbar. In Übereinstimmung mit den vorhergehenden eigenen Untersuchungen wurde als Extraktionsmittel eine Mischung aus Aceton und Petroläther angewandt. Als Ausgangsmaterial wurden bei den eigenen Untersuchungen unter Berücksichtigung der Kenntnisse über die Lokalisierung der Fruchtbehandlungsstoffe ausschließlich die Schalen gesunder Früchte verwendet. Bei den quantitativen Untersuchungen wurde der Diphenyl- und o-Phenylphenolgehalt der Früchte unter Berücksichtigung ihres Schalenanteils berechnet.

2.5.5.1 Versuche zur Extraktion von Zitrusfruchtschalen und Adsorption von Fruchtbehandlungsstoffen

Bei den Versuchen zum Ionenaustausch hatten sich die Fruchtbehandlungsstoffe neutral verhalten. Weiterhin hatten die Löslichkeitsversuche in Abschnitt 2.1.1.1 zwar die Löslichkeit aller Fruchtbehandlungsstoffe in wässrigem Aceton gezeigt, aber die Verteilungsversuche in Abschnitt 2.1.2.2 für Diphenyl eine bevorzugte Löslichkeit in der Petrolätherphase und für o-Phenylphenol eine etwa gleichmäßige Verteilung auf wässrige Phase und Petrolätherphase ergeben. Nach diesen Vorversuchen war die Aufarbeitung der Fruchtbehandlungsstoffe in einer Phase und eine adsorptionschromatographische Auftrennung zu prüfen.

Bei den eigenen Extraktionsversuchen mit unbehandelten Orangenschalen und zugesetzten Fruchtbehandlungsstoffen konnten alle zugegebenen Fruchtbehandlungsstoffe mit einer Petroläther-Aceton-Mischung 2 + 8 (Vol.) in Lösung gebracht werden. Die nachfolgende Fraktionierung der Extrakte an der Kieselgelsäule zeigte den Vorteil einer weitgehend wasserfreien Extraktlösung. Die bei

Zugabe der Petroläther-Aceton-Mischung infolge des hohen Wassergehaltes der Schalen entstehenden zwei flüssigen Phasen wurden in einem Fall getrennt aufgearbeitet, aber gemeinsam fraktioniert. Durch den Gehalt an wasserlöslichen Bestandteilen wurden bei dem papierchromatographischen Nachweis der zugesetzten Stoffe störende Färbungen erhalten. Bei den anderen Extraktionsverfahren wurde die Bildung von zwei flüssigen Phasen durch Vortrocknung der Schalen mit Natriumsulfat, wie auch von W.O. WINKLER (152) bei der Extraktion von Thioharnstoff verfahren wurde, verhindert. Diese Trocknung erwies sich jedoch noch nicht als ausreichend, das primäre Adsorpt war nicht trocken und die Fraktionierung an der Säule nicht befriedigend. Dagegen konnte durch Nachtrocknung der Extraktlösung mit Calciumchlorid ein zur Fraktionierung geeignetes Adsorpt erhalten werden (Tabelle 57).

Auch bei der Fraktionierung der Fruchtbehandlungsstoffe erwies es sich als günstig, das Sorptionsmittel trocken einzufüllen und das die nachzuweisenden Stoffe enthaltende primäre Adsorpt trocken aufzuschütten. Die bei der Petrolätherbehandlung der Säule noch auftretenden Luftblasen wurden nur aus der Schicht des primären Adsorpts gerührt, die nachfolgende Tetrachlorkohlenstoffbehandlung der Säule entfernte jegliche Lufteinschlüsse.

2.5.5.2 Quantitative Bestimmung von Fruchtbehandlungsstoffen

Nachdem mit Hilfe der Kieselgelsäule eine Fraktionierung der Fruchtbehandlungsstoffe an der Kieselgelsäule erhalten worden war, sollte nun versucht werden, ob ein mit Lösungsmitteln gewonnener Extrakt auch zur quantitativen Bestimmung verwendet werden kann, wenn eine Reinigung des Extraktes an der Kieselgelsäule erfolgt. Die Versuche wurden mit Modellanalysen und mit Zitrusfrüchten aus dem Handel durchgeführt. Zur quantitativen Ermittlung des Diphenyl- und o-Phenylphenolgehaltes wurden ausschließlich die kolorimetrischen Bestimmungsmethoden nach H. BÜHME und G. HOFMANN (75) angewendet.

2.5.5.2.1 Quantitative Bestimmung von Diphenyl

In diesen Versuchen wurde der beim Eindampfen eines Lösungsmittels bis zur Trockene entstehende Diphenylverlust ermittelt. So führte das Eindampfen einer Lösung des Diphenyls in Petroläther und Aceton bei Gegenwart eines Adsorptionsmittels nur zu einem Verlust von 4,5 % des Diphenyls, während das Eindampfen dieser Lösung ohne Adsorptionsmittel einen Diphenylverlust von 21 % zur Folge hatte. Da sich Tetrachlorkohlenstoff als spezifisches Elutionsmittel für Diphenyl erwiesen hatte, Diphenyl zur quantitativen Bestimmung (75) aber in einer Chloroformlösung nitriert wird, wurde auch der beim Abziehen dieses Lösungsmittels entstehende Verlust ermittelt. Er lag, infolge der schweren Flüchtigkeit des Tetrachlorkohlenstoffs, mit 27,6 % noch höher (Tabelle 58). Es wurde daher weiterhin geprüft, ob eine Nitrierung nicht auch in Tetrachlorkohlenstoff erfolgen kann. Die hierbei jedoch entstehenden abweichenden Färbungen und die niedrigere Absorption des aus dem Nitroprodukt hergestellten Farbstoffs weisen aber darauf hin, daß die Nitrierung in Tetrachlorkohlenstoff anders verläuft als in Chloroform. H. BÖHME und G. HOFMANN (75) hatten festgestellt, daß bei der Nitrierung des Diphenyls in Chloroform neben 4,4'- und 2,4'-Dinitrodiphenyl auch 2,2'-Dinitrodiphenyl entsteht, dessen Azofarbstoff die schwächste Absorption aufweist. Möglicherweise liefert die Nitrierung in Tetrachlorkohlenstoff bevorzugt dieses Nitroprodukt. Durch stufenweisen Ersatz des Tetrachlorkohlenstoffs durch Chloroform konnte aber die Absorption laufend erhöht werden. Eine Nitrierungsflüssigkeit mit einem Restgehalt von 2 ml Tetrachlorkohlenstoff führte zu einem Nitroprodukt, das nach Diazotierung und Kupplung praktisch die gleiche Absorption zeigte wie das ausschließlich in Chloroform erhaltene Nitroprodukt (Tabelle 59). Das zu hohen Verlusten führende Eindampfen der Tetrachlorkohlenstofflösung zur Trockene erwies sich danach zur Weiterverarbeitung in Chloroform als nicht erforderlich. Auf diese Weise konnte eine bereits bekannte und bewährte kolorimetrische Bestimmung des Diphenyls ohne Abänderungen übernommen und durch Extraktion und Fraktionierung an der Kieselgelsäule isoliertes

Diphenyl quantitativ damit bestimmt werden.

2.5.5.2.2 Quantitative Bestimmung von o-Phenylphenol

In Petroläther-Aceton gelöstes o-Phenylphenol, das beim Eindunsten des Lösungsmittels an Kieselgel adsorbiert und anschließend an der Kieselgelsäule fraktioniert wurde, konnte zu 90 - 100 % im Benzoleluat wiedergefunden werden. Das Ergebnis war unabhängig davon, ob bei der Fraktionierung die vorangehende Trichloräthylenbehandlung ausgelassen wurde oder nicht (Tabelle 60).

2.5.5.2.3 Ergebnisse bei Zitrusfrüchten

Diphenyl und o-Phenylphenol wurden in den Schalen von Zitrusfrüchten aus dem Handel, nachdem qualitativ nach Extraktion mit Petroläther-Aceton und Fraktionierung an der Kieselgelsäule der Gehalt an diesen Stoffen papierchromatographisch nach Abschnitt 1.2.6.2.1a festgestellt worden war, auch quantitativ in den entsprechenden Eluaten nach Abschnitt 1.2.6.2.1b und c bestimmt. Außerdem wurde jeweils dasselbe Schalenmaterial einer Wasserdampfdestillation unterworfen und im Destillat der Gehalt an Diphenyl und o-Phenylphenol in der von H. BÖHME und G. HOFMANN (75) beschriebenen Weise bestimmt. Für Diphenyl wurden nach beiden Verfahren Werte erhalten, die in den meisten Fällen um 10 % differierten und damit z.B. in der Größenordnung der für ein Verfahren (147) zulässigen Abweichung lagen. Für o-Phenylphenol wurden teils übereinstimmende, zum Teil aber auch niedrigere Werte als nach der Destillation gefunden. Eine Wertung dieser Ergebnisse ist jedoch nicht möglich, da das angewendete Verfahren (75) nur brauchbare Werte bis herab zu 7 mg o-Phenylphenol/Kilogramm liefern soll, in allen Fällen aber wesentlich niedrigere Gehalte festgestellt wurden. In einem Vergleich, der nach dem eigenen Verfahren wie Orangenschalen behandelt wurde, konnten die eingesetzten Diphenyl- und o-Phenylphenolmengen quantitativ wiedergefunden werden (Tabelle 61).

2.6. Analyse von Polysacchariden ohne und mit Quellstoffeigenschaften

Bei der Ausfällung von Quellstoffen werden auch die chemisch sehr verwandten Pflanzenschleime und aus tierischen Geweben stammende Polysaccharide miterfaßt. Es wurde versucht, durch schonendere Hydrolysebedingungen eine Trennung dieser Polysaccharide von den Quellstoffen zu erreichen. Die Hydrolysierbarkeit von Quellstoffen unter schonenden Bedingungen wurde in Modellversuchen und bei Lebensmitteln des Handels geprüft. Die Versuche mit Lebensmitteln des Handels zeigten zugleich das Verhalten von Polysacchariden ohne Quellstoffeigenschaften.

2.6.1 Hydrolyse von Polysacchariden mit Quellstoffeigenschaften

Quellstoffe können durch ihre Hydrolyseprodukte identifiziert werden. Die Hydrolyse von Quellstoffen wird vorzugsweise mit 5 proz. Schwefelsäure bei 100°C (103) und mit 1 n Salzsäure bei 120°C (104) durchgeführt. Da bei der Hydrolyse mit starken Säuren ein Teil der Uronsäuren zerstört wird (155), werden uronsäurehaltige Quellstoffe auch mit stark saurem Kationenaustauscher und Pektin mit Pektinase abgebaut (156). Der Nachweis der Hydrolyseprodukte kann bei der Salzsäurehydrolyse ohne Entfernung der Säure erfolgen (104), während nach der Hydrolyse mit 5 proz. Schwefelsäure die Sulfationen mit Bariumhydroxid und überschüssige Bariumionen am Kationenaustauscher entfernt werden (88). Die genannten Hydrolysemethoden bewirken den Abbau der Quellstoffe bis zu Monosacchariden und Uronsäuren. Ein weniger weitgehender Abbau wurde von G. MALFITANO und A. MOSCHKOFF bei Stärke durch Erhitzen im Autoklaven auf 120°C erreicht (157).

Eigene Versuche zur Hydrolyse der Quellstoffe in neutraler, wäßriger Lösung bei 140°C im Autoklaven zeigten, daß auch bei den meisten anderen Quellstoffen unter diesen Bedingungen ein Abbau erfolgte, der sich in einem Viskositätsabfall der Lösung und dem Auftreten niedermolekularer Verbindungen äußerte. Die

Abbaugeschwindigkeit konnte in 0,1 n Schwefelsäure erheblich gesteigert werden: Bereits nach 15 Min. bei 140°C (3 atü) waren nahezu alle für die einzelnen Quellstoffe charakteristischen Spaltprodukte vorhanden, ihre Menge nahm nach einer Erhitzungszeit von 45 Min. nur noch wenig zu (Tabelle 62). Aus der bei der Hydrolyse ungelöst gebliebenen Quellstoffsubstanz konnten mit starker Säure keine monomolekularen Bestandteile mehr erhalten werden (Tabelle 63). Uronsäurehaltige Quellstoffe waren nach dieser schwach sauren Hydrolyse sicher zu identifizieren, insbesondere waren die Bausteine der Alginsäure, D-Mannuronsäure und L-Guluronsäure, deutlich nachweisbar (vgl. Abschnitt 1.3.3.1), während nach der Hydrolyse mit starken Säuren bei Alginsäure nur der Fleck einer Uronsäure erhalten wird (158). Diese Hydrolyse war danach sowohl ausreichend zum Abbau aller Quellstoffe als auch schonend genug für uronsäurehaltige Quellstoffe. Daneben konnte infolge der geringen Säurekonzentration bei der Weiterverarbeitung der Hydrolyselösung auf eine Entfernung der Säureionen verzichtet werden.

2.6.2 Ergebnisse bei quellstofffreien und quellstoffhaltigen Lebensmitteln

Gewürzbestandteile in Lebensmitteln (88), Schwartengewebe (155) und Schleimstoffe in Kamille, Sellerie und Karotten (159) gaben bei der Hydrolyse gleichartige Spaltprodukte wie Quellstoffe. Die bei der Hochspannungselektrophorese der Schleimstoffe erhaltene Auftrennung zeigte aber, daß es sich hierbei nicht wie bei den Quellstoffen um chemisch einheitliche Substanzen handelt (159).

Die gleichen Erfahrungen wurden auch bei eigenen Untersuchungen von Lebensmittelpuben des Handels gemacht. Die mit Alkohol oder Aceton ausgefällten Polysaccharide ohne Quellstoffeigenschaften ergaben nach der Hydrolyse unter Druck mit 0,1 n Schwefelsäure besonders häufig "traganthähnliche" Zuckerchromatogramme, während in der Elektrophorese keine scharf begrenzten und insbesondere keine Traganth-Flecken erhalten wurden. Dagegen wurde beispiels=

weise bisher noch keine Mannose in solchen Polysacchariden gefunden, so daß eine Identifizierung geringer Mengen Guar- und Johannisbrotkernmehl neben diesen Polysacchariden durch Hydrolyse möglich ist. Geringe Mengen der anderen Quellstoffe sind jedoch, besonders in pflanzlichen Lebensmitteln, nur mit Hilfe der Elektrophorese und aufgrund der chemisch nicht einheitlich definierten Konstitution der Polysaccharide ohne Quellstoffeigenschaften zu identifizieren (Tabelle 64).

3. Systematischer Trennungsgang

Aufgrund des in Abschnitt 2. festgestellten Verhaltens der einzelnen Stoffe wurde ein Trennungsgang zusammengestellt, nach dem die geprüften Stoffe in verschiedenartigen Lebensmitteln aus einem Analysenansatz neben- oder nacheinander analysiert werden können.

In dem Lösungsmittelsystem Wasser - Aceton und/oder Äthanol - Petroläther wird die Lösung oder Ausfällung der einzelnen Lebensmittelbestandteile erreicht, wodurch gleichzeitig Emulsionen zerstört werden und eine Auftrennung der Stoffe in ein bis drei Phasen erfolgt.

In der wäßrigen Aceton-/Alkoholphase finden sich hydrophile Stoffe, die durch Ionenaustausch in eine Basen-, Säure- und Neutralfraktion getrennt werden.

In der Petrolätherphase finden sich lipophile Stoffe, die eventuell nach Abtrennung der Neutralfette mittels Äthanol über eine Kieselgelsäule mit sechs steigend polaren Lösungsmitteln aufgetrennt werden.

In dem unlöslichen Rückstand finden sich neben unlöslichen nahrungsmittelleigenen Stoffen vor allem die Quellstoffe, Fremdeiweiß und anorganische Bestandteile.

Zum Nachweis und teilweise auch zur Bestimmung der aufgetrennten Stoffe eignen sich die in Abschnitt 1. aufgeführten Nachweismethoden, ihre Anführung schließt die Anwendbarkeit auch anderer Nachweismethoden nicht aus. Eine schematische Übersicht des erarbeiteten Trennungsganges befindet sich in Abschnitt 3. des experimentellen Teils (S. 183).

3.1 Aufarbeitung eines Lebensmittels in drei Phasen

Die Phasentrennung erfolgt bei einer jeweils bestimmten Wasserkonzentration des Lösungsmittelsystems. Für die quantitative Ab-

trennung des unlöslichen Rückstandes wird eine Konzentration von 80 Vol. % organische Lösungsmittel bzw. 20 Vol. % Wasser in der wäßrigen Phase eingehalten, während die Trennung der beiden flüssigen Phasen, d.h. der wäßrigen Phase und der Petrolätherphase zur Herabsetzung der Mischbarkeit beider Phasen ineinander bei einem Gehalt von 67 Vol. % organische, polare Lösungsmittel bzw. 33 Vol. % Wasser in der wäßrigen Phase erfolgt.

3.1.1 Vorbereitung des Untersuchungsmaterials

Die Untersuchung beginnt daher mit der Ermittlung des Wassergehaltes in dem zerkleinerten Untersuchungsmaterial. Die Bestimmung erfolgt nach den in der Lebensmittelanalytik üblichen Methoden.

3.1.2 Einwaage des Untersuchungsmaterials

Zum Nachweis der in üblichen Anwendungskonzentrationen vorliegenden Stoffe genügt in der Regel eine Einwaage von 50 g des jeweiligen Lebensmittels. Bei Lebensmittelzusatzstoffen oder daraus hergestellten Mischungen sind meist nur 25 g oder weniger erforderlich.

Wasserlösliche Stoffe sollen in dem Untersuchungsmaterial in gelöster Form vorliegen. Im allgemeinen ist das der Fall bei einem Wassergehalt von 50 %. Sofern ein geringerer Wassergehalt festgestellt wurde, wird so viel Wasser zugegeben, wie zur Lösung der wasserlöslichen Stoffe erforderlich ist, mindestens jedoch bis zu einem Gesamtwassergehalt von 25 g, da die wäßrige Phase zur Aufnahme der hierfür vorgesehenen Stoffe ein bestimmtes Mindestvolumen nicht unterschreiten soll. Für handelsübliche Lebensmittelzusätze, die beispielsweise im wesentlichen aus Zucker und Salzen bestehen, ist eine Wassermenge von 25 g zur Lösung dieser Stoffe aus 50 g Untersuchungsmaterial in der Regel nicht ausreichend. Es muß meist von einer geringeren Einwaage ausgegangen werden, gegebenenfalls auch mehr Wasser zugesetzt werden. Bei Präparaten, die einen hohen Anteil an schwer löslichem Milchezucker aufweisen, muß allerdings auch dann noch damit gerechnet

werden, daß dieser bei Zugabe der organischen Lösungsmittel nicht quantitativ in Lösung gehalten werden kann.

Die auf diese Weise bereiteten wäßrigen Lösungen oder Suspensionen werden zur Freisetzung der Säuren aus ihren Salzen deutlich schwefelsauer gemacht. Bei Gegenwart von Kaliumsalzen der Weinsäure muß nachfolgend mit einer Ausfällung von unlöslichem Kaliumhydrogentartrat gerechnet werden (vgl. Abschnitt 4.1.5).

Abweichend von dieser Vorbereitung werden Fette nach Abschnitt 3.1.3 erst nach Lösung in Petroläther mit Wasser versetzt.

3.1.3 Auftrennung des Untersuchungsmaterials in drei Phasen

Durch Zugabe der organischen Lösungsmittel Aceton/Alkohol und Petroläther wird das vorbereitete Untersuchungsmaterial in ein bis drei Phasen aufgetrennt. Die Zahl der Phasen ist abhängig von der Zusammensetzung des Lebensmittels, aus dem das Untersuchungsmaterial gewonnen wurde.

Eine (flüssige) Phase wird erhalten, wenn das Lebensmittel keine lipophilen oder in wäßrigem Aceton/Alkohol unlöslichen Stoffe enthält, wie z.B. Sojasoßen und manche Getränkegrundstoffe.

Zwei flüssige Phasen werden bei reinen Fetten wie Schweineschmalz erhalten, während fettfreie Lebensmittel wie Gemüse- oder Obstkonserven, die neben hydrophilen Stoffen auch unlösliche pflanzliche Zellfragmente oder Quellstoffe enthalten, eine flüssige Phase und eine feste Phase aus unlöslichen Bestandteilen geben.

Drei Phasen entstehen bei Lebensmitteln, die sowohl lipophile wie unlösliche Stoffe enthalten, also z.B. bei Speiseeis, Mayonnaise, Backwaren und Wurst.

Die Zugabe der organischen Lösungsmittel erfolgt daher unter Berücksichtigung der voraussichtlichen Zusammensetzung des jeweils zu analysierenden Lebensmittels. Enthält dieses erwartungsgemäß

keine lipophilen Stoffe, wie beispielsweise die oben erwähnten Gemüsekonserven, wird das Untersuchungsmaterial nur mit den wasserlöslichen Lösungsmitteln Alkohol und/oder Aceton bis zu einer Konzentration von 80 Vol. % versetzt. Fetthaltiges Untersuchungsmaterial oder auch solches unbekannter Zusammensetzung wird dagegen zur Lösung des Fettes zugleich auch mit Petroläther vermischt.

Wird hierbei keine Fällung erhalten, so sind unlösliche Stoffe abwesend und es ist nur die Aufarbeitung in ein oder zwei Phasen erforderlich. Die wäßrige Phase wird in diesem Fall durch Zugabe von Wasser auf eine Konzentration von 67 Vol. % organische Lösungsmittel eingestellt. In dieser Konzentration wird sie zum Ionenaustausch und zur Trennung der Petrolätherphase von der wäßrigen Phase verwendet. In manchen Fällen kann das Untersuchungsmaterial auch gleich auf diese Konzentration eingestellt werden, nämlich dann, wenn ein unlöslicher Rückstand zwar zu erwarten ist, dieser aber außer unlöslichen Zellfragmenten keine weiteren Bestandteile aufweist wie z.B. bei Gurkenkonserven. Eine solche Vereinfachung ist aber bereits bei Obstkonserven wegen der darin enthaltenen Pektinstoffe nicht mehr zulässig.

Bei Zugabe der mit Wasser mischbaren Lösungsmittel muß auch der Zuckergehalt der Lebensmittel berücksichtigt werden, um insbesondere durch Aceton mögliche Entmischungen in der wäßrigen Phase zu vermeiden. So können fettfreie, zuckerarme Lebensmittel ausschließlich in wäßrigem Aceton aufbereitet werden, was im Hinblick auf die leichtere Flüchtigkeit des Acetons gegenüber Äthanol bei der später vorzunehmenden Entfernung des organischen Lösungsmittels von Vorteil ist. Fettfreie, zuckerreiche Lebensmittel werden dagegen wegen der Gefahr einer Entmischung nicht in wäßrigem Aceton, sondern in einer wäßrigen Aceton-Alkohol-Mischung gelöst bzw. gefällt. Entsprechend wird auch bei fetthaltigen Lebensmitteln verfahren, die nicht mehr als 25 % Zucker enthalten. Bei höheren Zuckergehalten muß das fetthaltige Untersuchungsmaterial aber entweder mit mehr Wasser vorbereitet werden oder die wäßrige Phase wird ausschließlich mit Wasser-Äthanol hergestellt. Das ist

auch dann erforderlich, wenn fetthaltige Lebensmittel auf Ascorbylpalmitat geprüft werden sollen (vgl. Abschnitt 4.2.4). In den nicht ausschließlich mit 80 Vol. % Aceton hergestellten wäßrigen Phasen tritt aber eine quantitative Ausfällung von Methylcellulose nicht ein, auch Dextrin wird nicht ganz quantitativ ausgefällt. In diesen Fällen wird daher in der Neutralfraktion auf noch in Lösung befindliche Quellstoffanteile geprüft (s. Abschnitt 3.2.2.3).

Abweichend von dieser Aufbereitung hat es sich dagegen bei Fetten als zweckmäßiger erwiesen, erst eine Petrolätherlösung des Fettes herzustellen, deren Mischung mit Aceton oder Äthanol durch Zugabe von Wasser entmischt wird.

Die Trennung der flüssigen Phasen von dem unlöslichen Rückstand erfolgt durch Zentrifugieren, wonach die flüssigen Phasen von dem unlöslichen Rückstand abdekantiert werden. Die flüssigen Phasen werden im Scheidetrichter getrennt, nachdem der Gehalt der wäßrigen Phase an organischen Lösungsmitteln auf 67 Vol. % durch Zugabe von Wasser herabgesetzt wurde.

Durch Auswägen des trockenen, unlöslichen Rückstandes kann eine darin durchgeführte quantitative Bestimmung (z.B. Milcheiweiß) auf das ursprüngliche Untersuchungsmaterial berechnet werden. Das Auswägen des Fettes nach Abzug der Lösungsmittel ist für die Weiterverarbeitung an der Kieselgelsäule nach Abschnitt 3.3 erforderlich und ermöglicht daneben annähernde Aussagen über den Fettgehalt des Lebensmittels. Quantitative Bestimmungen in der wäßrigen Phase werden durch Auffüllung auf ein bestimmtes Volumen, meist 200 oder 250 ml, ermöglicht.

3.2 Aufarbeitung der wäßrigen Phase

Der überwiegende Teil der in der wäßrigen Phase enthaltenen Stoffe kann durch Ionenaustausch weiter aufgetrennt werden. Für diese Stoffe wird die Hälfte der wäßrigen Phase so abgemessen, daß quantitative Aussagen ermöglicht bleiben. Der Rest dieser Phase

wird zum Nachweis für Stoffe verwendet, die wegen irreversibler Adsorption am Anionenaustauscher einem Ionenaustausch nicht unterworfen werden können.

3.2.1 Aufarbeitung ohne Ionenaustausch

Die Lösung wird entweder direkt oder nach Destillation auf Formaldehyd geprüft, wobei die vorhandenen organischen Lösungsmittel den qualitativen Nachweis nicht stören. Im Anschluß daran werden die ätherlöslichen Stoffe (Antioxydantien, fettlösliche Farbstoffe, Weinsäureglycerid und andere Emulgatoren) mit Äther ausgeschüttelt und im Ätherrückstand analysiert. Die extrahierte wäßrige Lösung dient zum Nachweis wasserlöslicher Farbstoffe (Teerfarbstoffe, Riboflavin).

3.2.2 Aufarbeitung mit Ionenaustausch

Der Austausch der Kationen erfolgt, sofern hohe Salzkonzentrationen nicht eine längere Säule erfordern, an einer Austauschersäule von 1 x 10 cm, die gleichen Maße weist auch die zur Vervollständigung des Anionenaustauschs verwendete Säule auf. Da der Durchfluß der mindestens 100 ml betragenden Analysenlösung unter Berücksichtigung eines in nicht rein wäßrigen Lösungen gegebenenfalls verzögerten Ionenaustauschs langsam erfolgt, wird die Analysenlösung zweckmäßig aus einem Vorratsbehälter auf die Säule getropft, wodurch die Überwachung der Säule erleichtert wird.

3.2.2.1 Abtrennung der Kationen

Auch wenn eine Untersuchung der Kationen nicht beabsichtigt ist, muß ihre Entfernung zur Vermeidung alkalischer Reaktionen am Anionenaustauscher und in der Neutralfraktion vorgenommen werden. Dies geschieht bei einer organischen Lösungsmittelkonzentration von 67 Vol. % an einem in der H-Form vorliegenden, stark sauren Kationenaustauscher. Durch nachfolgende Behandlung des Kationenaustauscherharzes mit acetonischer Natriumchloridlösung werden Ammoniak, Glutaminsäure und andere Aminosäuren, Cholin und Chinin

eluiert und können in dem eingeeengten Eluat nachgewiesen werden. Im Gegensatz zu den Säuren und Neutralstoffen kann bei basischen Stoffen aber nicht immer zugleich auch mit quantitativen Bestimmungsmöglichkeiten gerechnet werden, da offensichtlich manche Salze dieser Basen nach dem Ansäuern mit Schwefelsäure in acetoni-scher oder alkoholischer Lösung schlecht löslich sind. So hatte sich zwar nach Abschnitt 2.1.1.1 die Löslichkeit von Chininhydrochlorid in schwefelsaurem, wäßrigem Aceton ergeben, trotzdem traten bei chininhaltiger Limonade (Tonic Water) nach Zugabe von Aceton oder Alkohol Fällungen auf und der Chininnachweis im Kationenaustauschereluat der wäßrigen Phase war wesentlich schwächer als im Kationenaustauschereluat einer aus rein wäßriger Lösung ausgetauschten Probe. Auch konnten die in einer wäßrig-acetonischen Lösung von Ammoniumchlorid enthaltenen Ammoniumionen durch Ionenaustausch quantitativ wiedergefunden werden, während das in einer Zuckerkulör des Handels enthaltene Ammoniak durch Ionenaustausch nur aus wäßriger Lösung quantitativ wiedergefunden wurde, aus wäßrig-acetonischer Lösung jedoch nur zu etwa 66 %. Auch hier muß das Ammoniak teilweise als Salz hochmolekularer, sauer reagierender Farbstoffe unlöslich geblieben sein.

3.2.2.2 Abtrennung der Anionen

Zur Abtrennung der Anionen wird ein stark basischer Anionenaustauscher in der CO_3^- -Form verwendet. Das hieraus beim Austausch freigesetzte CO_2 -Gas würde in der Säule zu Verstopfungen führen. Die Analysenlösung wird daher, nach Durchfluß durch den Kationenaustauscher, außerhalb der Säule durch Zugabe des Anionenaustauscherharzes erst annähernd neutralisiert, ehe der Austausch der Säuren an der Säule vervollständigt wird. Die dann noch auftretenden Gasblasen behindern den Durchfluß der Analysenlösung nicht mehr.

Die Elution der Anionen erfolgt mit schwefelsaurer Acetonlösung. Die durch die einsetzende Gasentwicklung auftretenden Verstopfungen können durch gelegentliches Umrühren des Austauscherharzes behoben werden. Der Nachweis der Säuren ist in der neutralisierten

und eingeengten Elutionslösung infolge des hohen Salzgehaltes nicht möglich. Die Säuren werden daher in Äther und Alkohol überführt. Infolge des unterschiedlichen Verteilungskoeffizienten der ätherlöslichen Säuren in dem System Wasser-Äther wäre eine gemeinsame Isolierung nur durch Perforation möglich. Einfacher und zeitsparender ist jedoch das Ausschütteln wasserunlöslicher Säuren mit Äther aus wäßriger Lösung und die Überführung wasserlöslicher Säuren (niedere Fettsäuren, Cyclohexylsulfaminsäure, Hydroxycarbonsäuren) in Äther nach weitgehender Entfernung des Wassers. Mit dieser hier angewendeten Extraktionsweise werden die aromatischen Konservierungsstoffsäuren quantitativ, Sorbinsäure und Saccharin fast quantitativ aus wäßriger Lösung in den Äther überführt. Umgekehrt geht aber auch ein Teil der niederen Fettsäuren aus wäßriger Lösung in den Äther. Diese Verteilung muß bei einer quantitativen Bestimmung der nicht eindeutig in einer Phase verbleibenden Stoffe berücksichtigt werden.

Der in dieser Fraktion auftretende Vanillin- und Äthylvanillinanteil macht sich, wegen der Abwesenheit anderer Aromastoffe, bereits geruchlich bemerkbar.

Die auf ein bestimmtes Volumen aufgefüllten Ätherextrakte werden nur zum Teil für die qualitativen Analysen verbraucht. Bei positivem Nachweis von Benzoesäure und Sorbinsäure wird die quantitative Bestimmung mit einem Teil der restlichen Ätherextrakte durchgeführt. Der Nachweis geringer Mengen Ameisensäure kann nur durch halbquantitative Analyse nach Abschnitt 1.2.5.2.2 erfolgen. Hierbei muß beachtet werden, daß peroxidhaltiger Äther bei der Extraktion der Säuren bei der Ameisensäurebestimmung nach FINCKE durch Bildung schwer löslicher Quecksilberoxychloride zu Fehlbeurteilungen hinsichtlich des Ameisensäuregehaltes führt.

Im Äther nicht lösliche Glukonsäure wird anschließend mit Äthanol gelöst. In dieser Lösung kann auch auf Salzsäure, Salpetersäure und Phosphorsäure geprüft werden. Bei positivem Phosphatnachweis wird das vorhandene Phosphat im Untersuchungsmaterial direkt analysiert.

3.2.2.3 Neutralstoffe

Die nach der Austauscherbehandlung völlig ionenfreie Lösung weist eine neutrale Reaktion auf. Die darin enthaltenen Neutralstoffe werden, soweit sie ätherlöslich sind, mit Äther ausgeschüttelt. Der Nachweis von BHA, Lecithin, nichtionogenen Emulgatoren, Estern der p-Hydroxybenzoesäure und gegebenenfalls auch restlichem Vanillin und Äthylvanillin wird daher mit dem Rückstand des Ätherextraktes durchgeführt. Auch die Fruchtbehandlungsstoffe Diphenyl, Diphenylamin und o-Phenylphenol finden sich im Ätherextrakt der Neutralstoffe, wenn nicht der spezielle Trennungsgang nach Abschnitt 3.5.1 hierfür angewendet wird. Zucker, Zuckeralkohole, Glykole und Glycerin werden dagegen in der wäßrigen Lösung analysiert, die auch, bei Abwesenheit anderer wasserlöslicher Neutralstoffe, zum einfachen quantitativen Nachweis von Zucker verwendet werden kann. In der wäßrigen Lösung vorhandene Polyoxyäthylen-Sorbitanfettsäureester, Dulcin, Thioharnstoff und auch Coffein werden nach dem Einengen der Lösung mit Aceton extrahiert. Schließlich kann durch Lösen des Rückstandes mit Wasser und Ausfällung mit 80 Vol. % Aceton auf nicht ausgefällte Methylcellulose und Dextrin geprüft werden. Infolge der Salzfreiheit unlöslich gewordenes Eiweiß ruft geringe Trübungen in der Neutralfraktion hervor.

3.3 Aufarbeitung der Fettphase

Bei Gegenwart von Fettbestandteilen ist der Nachweis von BHT nicht möglich, auch die ionogenen Emulgatoren und Paraffin sind mit den üblichen papier- und dünnschichtchromatographischen Methoden bei Gegenwart größerer Neutralfettmengen nicht zu erfassen. Die nachzuweisenden Stoffe werden daher durch Fraktionierung an der Kieselgelsäule abgetrennt, wobei sie vorher gegebenenfalls durch Extraktion des Fettes mit Äthanol angereichert werden. Hierbei vom Neutralfett nicht abgetrennte Farbstoffe werden in üblicher Weise an der Aluminiumoxidsäule isoliert.

3.3.1 Vorbehandlung des Fettes

Eine einwandfreie Fraktionierung der lipophilen Stoffe wird nur erhalten, wenn nicht mehr als 50 mg Fett/g Kieselgel angewendet werden.

Für die Fraktionierung an der Kieselgelsäule werden 10 g Kieselgel eingesetzt, weiterhin wird mit den zu fraktionierenden Stoffen ein primäres Adsorpt aus 3 g Kieselgel hergestellt. Fettmengen bis 0,6 g können daher in der Regel ohne weitere Anreicherung fraktioniert werden, während darüber hinausgehende Fettmengen mit absolutem Äthanol extrahiert werden. Bei der Menge der zur Fraktionierung verwendeten Äthanollösung wird berücksichtigt, daß in 10 ml absolutem Äthanol im allgemeinen nicht mehr als 0,6 g Fett löslich sind. Höhere Fettmengen können, abgesehen von Ricinusöl und Traubenkernöl, mit denen in Lebensmitteln normalerweise nicht zu rechnen ist, bei Gegenwart von MilCHFett und Kokosfett gelöst sein. Bei Gegenwart dieser Fette wird daher nur die in 7 bzw. 4 ml absolutem Äthanol gelöste Fettmenge zur Fraktionierung verwendet. Bei Emulgatormischungen, die nur zum Teil Neutralfett enthalten, ist eine Äthanolbehandlung überflüssig, hiervon werden 0,6 g zur Fraktionierung verwendet.

Da bei den meisten Fetten die in 10 ml Äthanol gelöste Fettmenge chromatographiert wird und zur Lösung von 1 g Fett 2 ml Äthanol angewandt werden, muß bei Fettmengen von etwa 6 g ab die Verteilung der Stoffe in dem System Fett - absolutes Äthanol nach Eindüngung des Äthanols auf 10 ml wiederholt werden. Für den Nachweis der in üblichen Anwendungskonzentrationen vorliegenden Stoffe sind jedoch nicht mehr als 25 g Fett erforderlich, die bei etwa 80°C in 50 ml absolutem Äthanol gelöst werden.

Mit Ausnahme von Milch- und Kokosfett wird eine Trennung der äthanolischen Fettlösung in Fett- und Äthanolphase bei etwa 60°C erhalten. Bleibt eine Schichtentrennung bei dieser Temperatur aus, liegen diese Fette vor und die Trennung muß bei tieferen Temperaturen vorgenommen werden. Es werden nur die bis zu einer

Abkühlung auf etwa 20°C sich ausscheidenden Fettmengen abgetrennt, bei einer Abkühlung des Alkohols auf tiefere Temperaturen besteht die Gefahr, daß vorhandene Emulgatormengen, insbesondere Zitronensäureglycerid, völlig unlöslich werden.

Die auf diese Weise an den nachzuweisenden Stoffen angereicherte Äthanollösung wird in Gegenwart von Kieselgel zur Trockene gebracht, um eine gleichmäßige Verteilung und damit einwandfreie Fraktionierung der Stoffe zu erhalten und gegebenenfalls auch Verluste zu vermeiden. Zur Fraktionierung geeignetes Kieselgel adsorpt muß nach dem Abdunsten des Äthanol eine pulverige Beschaffenheit aufweisen, anderenfalls ist die darin enthaltene Menge der lipophilen Stoffe zu groß. In einem solchen Fall hilft gelegentlich die Zugabe von nochmals 1 - 2 g Kieselgel und etwas Äther, um die gewünschte Beschaffenheit des Adsorpts zu erhalten.

3.3.2 Auftrennung an der Kieselgelsäule

Auch für die Fraktionierung an der Kieselgelsäule werden mit Vorratsbehältern ausgestattete Glassäulen verwendet, um eine Überwachung zu erleichtern und damit die Analyse mehrerer Proben nebeneinander zu ermöglichen. Auf das in die Säule trocken eingefüllte Kieselgel wird das hergestellte primäre Adsorpt geschüttet und nach der eluotropen Reihe mit je 100 ml Lösungsmittel eluiert. Mit Petroläther wird vorhandenes Paraffin ausgewaschen und BHT mit Tetrachlorkohlenstoff eluiert. Dieser Stoff ist gegebenenfalls auch noch in der nachfolgenden Trichloräthylenfraktion enthalten, ausschlaggebend ist jedoch der Befund der Tetrachlorkohlenstofffraktion. Die mit Benzol eluierten Triglyceride geben bei der Chromatographie nach E. PIETSMANN (Abschnitt 1.1.1.1) häufig das gleiche Chromatogramm wie die nicht fraktionierten Fette. Es muß aber berücksichtigt werden, daß in manchen Fetten vorhandene lipophile Stoffe, die keine Triglyceride sind und daher nach der Fraktionierung auch nicht im Benzoleluat vorkommen, bei der Chromatographie der nicht fraktionierten Fette zusätzlich Flecken liefern, die bei der Chromatographie der durch Fraktionierung erhaltenen Triglyceride nicht erhalten werden.

Die mit Äther eluierten Emulgatoranteile (Fettsäureester des Sorbitans und Propylenglykols, Monoglyceride und Weinsäureglyceride) sind mit den üblichen Nachweismethoden nur bei solchen Proben zu erkennen, die geringe Fettmengen enthalten. Der überwiegende Teil dieser Emulgatoren wird jedoch besser in der wässrigen Phase und zwar im Äthereluat der Neutralfraktion nachgewiesen (vgl. Abschnitt 3.2.2.3), während Weinsäureglycerid und Zitronensäureglycerid auch im Methanoleluat, das zur besseren Lösung von Zitronensäureglycerid mit warmem Methanol hergestellt wird, zu finden sind.

3.3.3 Auftrennung von Farbstoffen an der Aluminiumoxidsäule

Für diese nur bei gefärbten Fetten erforderliche Analyse wird die zur Abtrennung fettlöslicher Farbstoffe übliche Säulenchromatographie an Aluminiumoxid nach BROCKMANN in einer Ausführung angewendet, wie sie in einer Empfehlung des MINISTERAUSSCHUSSES der BENELUX-WIRTSCHAFTSUNION (29) enthalten ist zur Trennung von Farbstoffen nach einer bei der vorliegenden Arbeit nicht angewendeten Isolierung. Für diese Analyse werden nicht fraktionierte Fettanteile oder auch die gefärbten Benzol- und Äthereluate der Kieselgelsäule verwendet.

3.4 Aufarbeitung des unlöslichen Rückstandes

3.4.1 Quantitative Bestimmungen

Diese werden bei Stoffen ausgeführt, die hauptsächlich nach ihrem mengenmäßigen Vorkommen in Lebensmitteln beurteilt werden.

3.4.1.1 Milcheiweiß

Der im vorliegenden Trennungsgang anfallende unlösliche Rückstand enthält vorhandenes Milcheiweiß nahezu quantitativ. Da die Menge des unlöslichen Rückstandes festgestellt wurde (vgl. Abschnitt 3.1.3), kann der ermittelte Milcheiweißgehalt auf das Lebensmittel berechnet werden.

3.4.1.2 Talkum auf Reis

Die bei dem üblichen Nachweis von Talkum auf Reis vorgesehene Behandlung mit Natronlauge (5) bezweckt im wesentlichen die Entfernung von Stärke, die bei der hier angewendeten nachfolgenden Veraschung ohnehin entfernt würde. Diese Behandlung wurde aber zur Entfernung löslicher Silikate beibehalten. Hierdurch und durch die ebenfalls vorgesehene Behandlung mit Salzsäure wird eine so weitgehende Reinigung von etwa vorhandenem Talkum erzielt, daß der Magnesiumgehalt der gereinigten Mineralstoffe zu seiner Identifizierung verwendet werden kann.

3.4.2 Aufarbeitung zu qualitativen Nachweisreaktionen

Bei der Behandlung des im Trennungsgang angefallenen, unlöslichen Rückstandes mit heißem Wasser gehen alle neutralen Quellstoffe und zum Teil auch pflanzliche Polysaccharide in Lösung. Auch werden bei hohem Salzgehalt ausgefallene Alkalisulfate gelöst.

3.4.2.1 Wasserlösliche Bestandteile

Die wäßrige Lösung der Quellstoffe kann gegebenenfalls ohne weitere Behandlung elektrophoretisch auf Gelatine und nach Hydrolyse papierchromatographisch auf Quellstoffe geprüft werden. Ein erneutes Ausfällen der Quellstoffe ist zur elektrophoretischen Identifizierung der Quellstoffe auf Kohlenhydratbasis neben anderen pflanzlichen Polysacchariden sowie nach Extraktion der Quellstoffe aus unlöslichen Rückständen erforderlich.

3.4.2.2 Wasserunlösliche Bestandteile

Tritt bei der Behandlung des im Trennungsgang angefallenen unlöslichen Rückstandes mit heißem Wasser keine vollständige Lösung ein, sind pflanzliche Zellfragmente, unlösliche Eiweißstoffe, Stärke, Quellstoffsäuren und/oder unlösliche Mineralstoffe vorhanden. Dieser Rückstand, der Fett und andere bei der Mikroskopie

störende Stoffe nicht mehr enthält, wird auf pflanzliche Zellbestandteile untersucht. Anschließend werden vorhandene Carboxymethylcellulose und Alginsäure mit Wasser bei Überdruck herausgelöst. Der danach noch verbleibende Rückstand enthält auf Eiweiß aufgezogene Teerfarbstoffe, die mit ammoniakhaltigem Äthanol abgelöst werden. Zum Nachweis von Calciumverbindungen und Titan-dioxid werden Eiweißstoffe und Kohlenhydrate verbrannt, die Asche zur Lösung von Calcium mit heißer Salzsäure behandelt und die noch verbleibenden ungelösten Bestandteile auf Titandioxid geprüft.

3.5 Spezielle Trennungsgänge

Für Lebensmittel, die nur eine begrenzte Behandlung mit Zusatzstoffen erfahren, sonst aber in ihrer natürlichen Beschaffenheit vorliegen, kann das in Abschnitt 3. aufgezeigte Schema des vollständigen Trennungsganges wesentlich vereinfacht werden.

3.5.1 Nachweis von Schalenbehandlungsmitteln bei Zitrusfrüchten

Eine in diesem Sinne begrenzte Anwendung von Zusatzstoffen stellt die Schalenbehandlung von Zitrusfrüchten dar, zu deren Nachweis nur von dem behandelten Teil dieses Lebensmittels, d.h. den Schalen ausgegangen wird.

3.5.1.1 Vorbereitung des Untersuchungsmaterials

Das Schälen der Früchte soll so geschehen, daß eine Rückrechnung eventuell vorgenommener quantitativer Bestimmungen auf die gesamten Früchte erfolgen kann. Aus diesem Grund wird der Schalenanteil gewogen.

3.5.1.2 Einwaage des Untersuchungsmaterials

Für die Analyse werden 20 g Schalen eingewogen. Das diesem Schalen-gewicht entsprechende Fruchtgewicht beträgt bei kleinen Früchten

(Zitronen, Mandarinen) 80 - 90 g, bei mittleren Früchten (Orangen) 90 - 110 g und bei sehr großen Früchten (Grapefruits) 110 - 150 g. Durch Zugabe von Schwefelsäure, verdünnt in Aceton, wird das Natriumsalz des o-Phenylphenols in das freie Phenol überführt. Die anschließende Vortrocknung der Schalen mit Natriumsulfat verhindert die Bildung von zwei flüssigen Phasen bei Zugabe der zur Extraktion verwendeten Petroläther-Aceton-Mischung. Durch erschöpfende Extraktion der Schalen wird die quantitative Ablösung der Schalenbehandlungsstoffe erreicht. Anschließend wird die noch wasserhaltige Extraktionslösung mit Calciumchlorid getrocknet und in Gegenwart von Kieselgel zur Trockene gebracht.

3.5.1.3 Fraktionierung der Fruchtbehandlungsstoffe an der Kieselgelsäule

Die Fraktionierung der Fruchtbehandlungsstoffe an der Kieselgelsäule erfolgt in gleicher Weise, wie dies für die lipophilen Stoffe im allgemeinen Trennungsgang in Abschnitt 3.3.2 beschrieben wurde. Mit Petroläther wird, neben ätherischem Öl, Paraffin ausgewaschen, mit Tetrachlorkohlenstoff Diphenyl. Diphenylamin wird im Trichloräthyleneluat nachgewiesen und o-Phenylphenol in dem mit Benzol gewonnenen Eluat. Etwa vorhandene Teerfarbstoffe werden mit Äther eluiert, während Thioharnstoff mit Methanol abgelöst wird. Zum qualitativen Nachweis von Diphenyl und o-Phenylphenol wird nur ein Teil der Eluate angewendet, auf diese Weise wird bei Gegenwart dieser Fruchtbehandlungsstoffe ihre quantitative Bestimmung in der restlichen Lösung ermöglicht.

3.5.2 Nachweis von Oberflächenbehandlungsmitteln bei Reis

Auch bei Reiskörnern ist die Anwendung von Zusatzstoffen auf die Oberfläche beschränkt. Die in Frage kommenden Stoffe (Paraffin, Stärkesirup, Talkum) zeichnen sich durch so unterschiedliche Löslichkeit aus, daß ihre Aufarbeitung mit der Auftrennung in drei Phasen im wesentlichen abgeschlossen ist.

3.5.2.1 Ablösung und Auftrennung der Oberflächenbehandlungsmittel in drei Phasen

Hierbei wird vorhandenes Paraffin in Petroläther überführt und Zucker unter längerem Schütteln in 80 proz. Äthanol gelöst, wodurch zugleich unlösliches Talkum von den Reiskörnern abfällt. Die Reiskörner werden von den auf diese Weise abgelösten Oberflächenbehandlungsstoffen unter Nachwaschen abgesiebt. Danach werden die flüssigen Phasen durch Zentrifugieren und Dekantieren von dem unlöslichen, das Talkum enthaltenden Rückstand getrennt. Die Trennung der flüssigen Phasen untereinander erfolgt im Scheidetrichter.

3.5.2.2 Nachweis der einzelnen Oberflächenbehandlungsmittel in den drei Phasen

Im unlöslichen Rückstand enthaltenes Talkum wird nach Abschnitt 3.4.1.2 aufgearbeitet, Paraffin wird ohne weitere Anreicherung im Rückstand der Petrolätherphase erkannt, während Stärkesirup, dessen Dextrinanteil bei der geringen Anwendungsmenge von 0,2 - 0,5 g Stärkesirup/100 g Reis vernachlässigt wird, qualitativ und quantitativ durch die Konzentrierung der wässrigen Phase auf 10 ml nachgewiesen werden kann.

4. Probeanalysen zur Überprüfung des Trennungsganges

Die Brauchbarkeit des Trennungsganges wurde an 10 Probeanalysen überprüft^{*)} und die Herkunft der gefundenen Stoffe diskutiert. Die nach Abschluß aller Untersuchungen bekanntgegebene Zusammensetzung dieser Proben ist in Abschnitt 4. des experimentellen Teils aufgeführt. Alle Analysen waren richtig. Besondere Beobachtungen werden im folgenden erläutert.

4.1 Kontrollanalysen mit vollständigem Trennungsgang

4.1.1 Sonnenblumen-Mayonnaise

Die Auftrennung und der Nachweis der einzelnen Bestandteile machten keine Schwierigkeiten. Paraffin, dessen Verhalten bei der Alkoholextraktion des Fettes zuvor nicht geprüft worden war, ließ sich mit Alkohol extrahieren und erschien bei der Trennung an der Kieselgelsäule an der zu erwartenden Stelle. Der papierchromatographische Nachweis der charakteristischen Fettsäuren des verwendeten Erdnußöls gelang weder in der Triglyceridfraktion noch nach konventioneller Extraktion des Fettes.

4.1.2 Gesundheitskuchen

Durch die vorhandenen natürlichen Bestandteile (Mehl, Eier, Milch) wurde neben den Zusatzstoffen eine Vielzahl lebensmittelgleicher Stoffe gefunden. Auftrennung und Nachweis verliefen störungsfrei.

4.1.3 Doppelrahmfrischkäse

Hier wurde erstmals die schlechte Löslichkeit von Alginsäure

*) Die Analysen wurden von Herrn Prof. Dr. E. Schneider, o. Professor für Lebensmittelchemie der Universität Hamburg, vorgelegt, ausgegeben und korrigiert. Dafür bin ich ihm sehr zu Dank verbunden.

bei Normaldruck in neutraler, wäßriger Lösung beobachtet (vgl. Abschnitt 2.1.1.2). Auch wurde bei der quantitativen Sorbinsäurebestimmung erstmals die Abhängigkeit des gefundenen Sorbinsäurewertes von der zur Lösung verwendeten 0,1 n Natronlauge festgestellt (vgl. Abschnitt 2.4.7.2.1). Der mit neutraler Lösung gefundene Wert entsprach der Theorie.

4.1.4 Speiseeispulver

Auch hier wurde, bedingt durch die Bestandteile Milchpulver und Eipulver, eine Vielzahl lebensmitteleigener Stoffe gefunden. Propylenglykolmonostearat, dessen Verhalten im Trennungsgang bisher nicht geprüft worden war, fand sich an der gleichen Stelle wie die geprüften nichtionogenen Emulgatoren. Bei Carboxymethylcellulose, die erst bei der Wiederholung gefunden wurde, ergaben sich die in Abschnitt 2.1.1.2 über die Löslichkeit der Alginsäure und Carboxymethylcellulose mitgeteilten Erfahrungen.

4.1.5 Kutterhilfsmittel für Brühwürste

Im Trennungsgang bisher nicht geprüft Polyglycerinstearat fand sich an der gleichen Stelle wie die geprüften nichtionogenen Emulgatoren. Im Trennungsgang gefundenes und nicht näher identifiziertes Phosphat wurde außerhalb des Trennungsganges als Pyrophosphat erkannt. Der nur schwache Ausfall des Weinsäurenachweises ist offensichtlich mit der Bildung von schwer löslichem Kaliumhydrogentartrat beim Ansäuern der Probe zu Beginn des Trennungsganges zu erklären.

4.2 Kontrollanalysen mit abgekürztem Trennungsgang

4.2.1 Konfitüre

Trennung und Nachweis der einzelnen Stoffe verliefen ohne Besonderheit. Bei der quantitativen Bestimmung der Sorbinsäure wurden die gleichen Erfahrungen wie bei der Käseprobe Abschnitt

4.1.5 gemacht. Der nach neutraler Lösung der Sorbinsäure gefundene Wert entsprach dem auf konventionelle Weise durch Wasserdampfdestillation erhaltenen Wert (vgl. Abschnitt 2.4.7.2.2).

4.2.2 Weiße Tauchmasse für Salami

Titandioxid und Calciumcarbonat, deren Verhalten im Trennungsgang bisher nicht geprüft wurde, konnten von den anderen Bestandteilen getrennt werden.

4.2.3 Gewürzgurken

Trennung und Nachweis der einzelnen Bestandteile verliefen ohne Schwierigkeiten. Der Benzoessäurewert wurde bei der Wiederholung etwas höher gefunden und entsprach dem lediglich durch Ausschütteln, d.h. ohne Trennungsgang gefundenen Wert (vgl. Abschnitt 2.4.7.2.2). Die Ameisensäure wurde zuerst nur in dem zweiten Ätherextrakt (vgl. Abschnitt 3.2.2.2b) bestimmt. Bei der Wiederholung wurde auch die in dem ersten Ätherextrakt (vgl. Abschnitt 3.2.2.2a) vorhandene Ameisensäure berücksichtigt. Der gefundene gesamte Ameisensäuregehalt war 7,1 % niedriger als der auf konventionelle Weise im Wasserdampfdestillat bestimmte Wert (vgl. Abschnitt 2.4.7.1.2).

4.2.4 Fett

Der Nachweis von Ascorbylpalmitat, der zunächst nicht durchgeführt worden war, wurde durch vorhandenes Aceton gestört. Die Störung entfiel bei Verwendung von Äthylalkohol anstelle von Aceton.

4.2.5 Backfettmischung

Die Analyse verlief ohne Schwierigkeiten, die Herkunft geringer gefundener Mengen Milchsäure und 2,3-Butandiol ließ sich nicht

klären.

4.3 Diskussion der Ergebnisse

Qualitative Nachweise

Der Gehalt der Proben an lebensmitteleigenen und -fremden Stoffen konnte nach Abschluß der Untersuchungen erschöpfend angegeben werden. An Modellversuchen vorher ausreichend geprüfte Substanzen wurden in den Probeanalysen an den zu erwartenden Stellen des Trennungsganges gefunden und ohne Schwierigkeiten nachgewiesen. Ein Teil zuvor nicht geprüfter Substanzen fiel bei der Isolierung der einzelnen Fraktionen auf und konnte identifiziert werden (Propylenglykol- und Polyglycerinstearat, Titandioxid, Calciumcarbonat). Ein anderer Teil mit extremem Lösungsverhalten (Alginsäure, Carboxymethylcellulose) und begrenzter Nachweismöglichkeit (Ascorbylpalmitat) wurde z.T. erst nach Kenntnis dieser Eigenschaften in entsprechenden Modellversuchen auch in den Probeanalysen gefunden. Es kann also damit gerechnet werden, daß auch bisher unbekannte bzw. nicht geprüfte Stoffe mit der vorliegenden Form des Trennungsganges erfaßt und erkannt werden können. Für einzelne Stoffe erforderliche Abänderungen können ohne Schwierigkeiten eingefügt werden.

Quantitative Aussagen

Die Bestimmung der Benzoesäure im Trennungsgang entsprach dem auf konventionelle Weise erhaltenen Wert. Die Ursache abweichender Ergebnisse bei der Bestimmung der Sorbinsäure konnte geklärt und behoben werden. Die halbquantitative Aussage über den Ameisensäuregehalt näherte sich dem auf konventionelle Weise erhaltenen Wert. Danach besteht grundsätzlich die Möglichkeit, diesen Trennungsgang nicht nur für qualitative, sondern ohne zusätzliche Mehraufwendungen zugleich auch für quantitative Aussagen einzusetzen, wodurch einem Bedürfnis der Praxis Rechnung getragen würde.

II. EXPERIMENTELLER TEIL

1. Analytik der einzelnen Inhalts- und Zusatzstoffe

1.1 Analytik stark lipophiler Inhalts- und Zusatzstoffe

1.1.1 Fette

1.1.1.1 Analytik der Fette

1.1.1.1.1 Dünnschichtchromatographie der Triglyceride (9)

Die 5 proz. Lösung des Fettes in Petroläther (50 - 75°C) wird als 10 mm langer Strich auf eine hydrophobisierte Kieselgur-G-Platte P 2 aufgetragen. Die Menge des aufgetragenen Fettes soll 0,1 mg betragen. Es wird zwei- bis dreimal im Fließmittel F 27 entwickelt, wobei die Platte jeweils vorher durch zweistündige Lufttrocknung bei Raumtemperatur vom Fließmittel befreit wird. Danach wird nochmals 2 Stunden an der Luft getrocknet und so dann mit Phosphormolybdänsäure-Lösung I R 1 besprüht. Die Flecken erscheinen langsam nach etwa 2 - 3 Stunden. Als Vergleich dienen Fette bzw. Triglyceride aus Fetten der angegebenen oder vermuteten Art.

1.1.1.1.2 Papierchromatographie der Fettsäuren (11)

Hydroxamsäureansatz:

Etwa 50 mg des Fettes werden in 3 ml Hydroxylaminlösung I R 2 in einem 50 ml Stehkölbchen mit Rückflußkühler nach Zugabe eines Siedesteines 45 Min. zum schwachen Sieden erhitzt. Nach dem Abkühlen werden 2 ml Methanol zugegeben. Sofern nur die Hydroxamsäuren analysiert werden sollen, wird die Gesamtmenge mit 0,5 ml Eisessig-Tetrahydrofuran-Lösung R 3 angesäuert. Anderenfalls s. Abschnitt 1.2.6.5.2.

Chromatographie der Hydroxamsäuren:

Der Hydroxamsäureansatz wird zweimal als 1,5 - 2 cm langer Strich im Abstand von 2,5 cm von der Papierunterkante auf acety-

liertes Filterpapier FP 1 aufgetragen und während 2 - 4 Stunden im Fließmittel F 1 entwickelt. Nach dem Trocknen an der Luft wird das Chromatogramm von beiden Seiten mit Eisenchlorid-Lösung I R 4 besprüht. Als Vergleich dienen Kokosfett und Propylen-glykolstearylester, die in gleicher Weise behandelt wurden. Das Ergebnis zeigt Tabelle 1.

Fettsäure		hRf - Werte
Caprylsäure	$C_7H_{15}COOH$	57
Caprinsäure	$C_9H_{19}COOH$	46
Laurinsäure	$C_{11}H_{23}COOH$	38
Myristinsäure	$C_{13}H_{27}COOH$	34
Palmitinsäure	$C_{15}H_{31}COOH$	30
Stearinsäure	$C_{17}H_{35}COOH$	24

Tabelle 1: Chromatographie von Fettsäuren als Hydroxamsäuren
Papier FP 1, Fließmittel F 1

1.1.2 Emulgatoren - Glyceride organischer Hydroxycarbonsäuren

1.1.2.1 Analytik der Glyceride als Gesamtmolekül

Die zu untersuchende Probe wird, eventuell unter Zugabe von etwas Chloroform, in Äthyläther gelöst und ein Teil der Lösung auf eine Kieselgel-G-Platte P 3 aufgetragen. Als Vergleiche werden 1 - 2 mg der Emulgatoren in Chloroform oder Äther aufgetragen. Entwickelt wird mit dem Fließmittel F 4 bis zu einer Steighöhe von 15 cm. Nach kurzem Abdunsten des Fließmittels bei Zimmertemperatur wird mit Natriumperjodat-Benzidin-Lösung R 8 besprüht. Zitronensäureglycerid ist bereits nach dem Besprühen mit Natriumperjodatlösung als undurchsichtig-weiße, vom Startpunkt ausgehende Fahne erkennbar, die auch nach dem Besprühen mit Benzidinlösung weiß bleibt. Weinsäureglycerid gibt mehrere weiße Flecken auf blauem Grund mit den hRf - Werten 0, 7, 10 und 23.

1.1.2.2 Analytik der Verseifungsprodukte

a) Papierchromatographie der Fettsäuren (11)

Die Analyse erfolgt wie in Ziff. 1.1.1.1.2

b) Papierchromatographie der Hydroxycarbonsäuren

Die nach Abschnitt 1.1.1.1.2 hergestellte Lösung wird vier- bis achtmal als 1,5 cm langer Strich auf Filterpapier FP 2 aufgetragen. Es wird bis zu einer Steighöhe von 20 cm in dem Fließmittel F 5 entwickelt und nach dem Abdunsten des Lösungsmittels bei Zimmertemperatur mit Eisenchlorid-Lösung I R 4 beidseitig besprüht. Weinsäure- und Zitronensäureglycerid geben einen Fleck mit dem R_f - Wert 49, acetyliertes Weinsäureglycerid außerdem den Hydroxamsäurefleck der Essigsäure (R_f - Wert 74).

Als Vergleich dienen die Hydroxamsäure-Lösungen von Weinsäure- und Zitronensäureglyceriden (18).

Ein zweites in gleicher Weise vorbereitetes Chromatogramm wird in dem Fließmittel F 6 bis zu einer Steighöhe von 20 cm entwickelt und beidseitig mit Eisenchlorid-Lösung II R 9 besprüht. Das Ergebnis zeigt Tabelle 2.

Carbonsäure	R_f - Werte
Weinsäure	2
Zitronensäure	3,7
Milchsäure	38
Essigsäure	50

Tabelle 2: Chromatographie von Essigsäure und Hydroxycarbonsäuren als Hydroxamsäuren
Papier FP 2, Fließmittel F 6

1.1.3 Kohlenwasserstoffe - Paraffin

1.1.3.1 Verseifungsprobe (20)

6 - 8 Tropfen der Probe werden mit etwa 5 ml 0,5 n alkoholischer Kalilauge R 5 2 Min. im Reagenzglas gekocht. Zu der Seifenlösung werden allmählich 0,5 bis 15 ml destilliertes Wasser zugesetzt. Flüssiges Paraffin scheidet sich ölig ab.

1.1.4 Antioxydantien - Butylhydroxytoluol

1.1.4.1 Analytik von Butylhydroxytoluol (24,26)

- a) Von der zu untersuchenden und in Petroläther gelösten Probe wird soviel auf eine Kieselgel-G-Platte P 3 aufgetragen, wie einer Menge von $1\mu\text{g}$ BHT oder mehr entspricht. Entwickelt wird mit Chloroform bis zu einer Höhe von etwa 10 cm. Nach kurzem Abdunsten des Fließmittels bei Zimmertemperatur wird mit Phosphormolybdänsäure-Lösung II R 6 besprüht und die Platte in Ammoniakatmosphäre gebracht. Bei Gegenwart von BHT zeigt sich ein blauer Fleck an der Fließmittelgrenze. Eine zweite, in gleicher Weise entwickelte Kieselgel-G-Platte P 3 wird mit 2,6-Dichlorchinonchlorimid-Lösung R 7 besprüht. Der BHT-Fleck ist altrosa, bei stärkerer Konzentration gelb.
- b) Von der zu untersuchenden Probe wird soviel auf eine Polyamid-Platte P 4 aufgetragen, wie einer Menge von $10\mu\text{g}$ BHT und mehr entspricht. Entwickelt wird mit dem Fließmittel F 2 bis zu einer Höhe von etwa 15 cm. Nach dem Trocknen der Platte bei Zimmertemperatur wird mit Phosphormolybdänsäure-Lösung II R 6 besprüht und die Platte in Ammoniakatmosphäre gebracht. BHT gibt einen blauen Fleck, hRf - Wert 58.

1.1.5 Lipophile Farbstoffe

1.1.5.1 Analytik der als Zusatzstoffe verwendeten Carotinoide und von Curcumin (30)

Die zu untersuchende Farbstoff-Lösung wird auf eine Kieselgel-G-Platte P 3 aufgetragen. Entwickelt wird im Dunkeln und in CO₂-Atmosphäre mit dem Fließmittel F 3 bis zu einer Höhe von 10 cm. Das Ergebnis zeigt Tabelle 3. Von den dort aufgeführten Carotinoiden finden sich β -Carotin, β -Apo-8'-Carotinsäure-äthylester, β -Apo-8'-Carotinal und Canthaxanthin ausschließlich in der Fettphase.

Carotinoid	Farbe	hRf - Werte
β -Carotin	goldgelb	97
β -Apo-8'-Carotinsäure-äthylester	bräunlich-orangegelb	54
β -Apo-8'-Carotinal	bräunlichrot	34
Canthaxanthin	rötlichbraun	9
Bixin	bräunlich-gelbrot	8
Curcumin	braungelb	0

Tabelle 3: Dünnschichtchromatographie der als Zusatzstoffe verwendeten Carotinoide
Kieselgel-G-Platte P 3, Fließmittel F 3

1.1.5.2 Analytik lebensmitteleigener lipophiler Farbstoffe

Bei der vorstehend angeführten Dünnschichtchromatographie der Carotinoide werden bei Gegenwart von Paprika, Chillies, Curcumpulver, Eigelb, Tomaten und Gurken ebenfalls Farbflecken erhalten. Diese sind in Tabelle 4 aufgeführt.

Lebensmittel	Carotinoidfarbe	hRf - Werte
Paprika	rot	19
	bräunlich-rot	35
Chillies	rot	23
	bräunlich-rot	40
Curcumpulver	braungelb (Curcumin)	0
Eigelb	gelb (Lutein)	0
Tomaten	rotgelb (Lycopin)	96
	grün (Chlorophyll)	10
Gurken	grün (Chlorophyll)	10

Tabelle 4: Dünnschichtchromatographie von lebensmitteleigenen Carotinoiden
Kieselgel-G-Platte P 3, Fließmittel F 3

1.1.5.3 Analytik fettlöslicher Teerfarbstoffe (41)

Ein Teil des ätherlöslichen Farbstoffs wird auf eine Kieselgel-G-Platte P 3 aufgebracht und mit dem Fließmittel F 10 bis zu einer Steighöhe von 13,5 cm entwickelt. Das Ergebnis zeigt Tabelle 5.

Farbstoffbezeichnung	hRf - Werte	Ordnungs-Nr. nach der Farbstoff-VO
Ceresgelb	86	C 9
Ceresrot	18	C 10
Sudanblau	18	C 11

Tabelle 5: Chromatographie fettlöslicher Teerfarbstoffe
Kieselgel-G-Platte P 3, Fließmittel F 10

1.2 Analytik niedermolekularer, hydrophiler und schwach lipophiler Inhalts- und Zusatzstoffe

1.2.1 Antioxydantien - Gallate, Butylhydroxyanisol, Ascorbylpalmitat

1.2.1.1 Analytik der Antioxydantien

Die Analyse erfolgt entsprechend Abschnitt 1.1.4.1b (BHT). Als Vergleiche werden 2 - 5 μg der nachzuweisenden Antioxydantien aufgetragen. Das Ergebnis zeigt Tabelle 6.

Antioxydants	hRf - Werte
Gallussäurestearylester	0
Gallussäureäthylester	19
Gallussäurelaurylester	20
Gallussäurepropylester	52
Nordihydroguajaretsäure	28
Butylhydroxyanisol	59
Butylhydroxytoluol	58

Tabelle 6: Dünnschichtchromatographie von Antioxydantien
Polyamidplatte P 4, Fließmittel F 2

1.2.1.2 Dünnschichtchromatographischer Nachweis von Ascorbylpalmitat (33)

Die Lösung der Analysenprobe in 10 ml Methanol R 10 wird in einem Reagenzglas mit 0,2 ml Trichloressigsäure-Lösung R 11 und mit soviel 2,6-Dichlorphenolindophenol-Natrium-Lösung R 12 versetzt, daß die Mischung deutlich rotviolett gefärbt ist. Nach etwa 5 Min. werden 2 ml 2,4-Dinitrophenylhydrazin-Lösung R 13 zugesetzt. Die Mischung wird 1 Stunde im Wasserbad von etwa 70° erhitzt. Danach wird die Lösung mit 50 ml Wasser in einen Scheidetrichter überführt und zweimal mit je 20 ml Essigsäureäthylester ausgeschüttelt. Die vereinigten Essigsäureäthylester-Extrakte werden im Vakuum auf etwa 5 ml eingeeengt

und 10 - 20 mal strichförmig auf eine Kieselgel-H-Platte P 5 aufgetragen. Als Vergleich dient eine in gleicher Weise hergestellte Lösung von Ascorbylpalmitat, die in 10 ml Methanol R 10 etwa 4 mg dieses Stoffes enthält. Entwickelt wird in dem Fließmittel F 7 bis zu einer Steighöhe von 17 cm. Bei Gegenwart veresterter Ascorbinsäure ist eine ziegelrote Zone mit dem R_f - Wert 43 sichtbar.

1.2.2 Hydrophile Farbstoffe

1.2.2.1 Teerfarbstoffe

1.2.2.1.1 Analytik der Teerfarbstoffe

Vorbereitung der Analysenlösung (34,5):

Die alkohol- und acetonfreie wäßrige Lösung der Farbstoffe, die neutral oder schwach sauer sein muß, wird mit einer zur Aufnahme des Farbstoffes ausreichenden Menge Polyamidpulver (Woelm, zur Chromatographie) versetzt. Nach einigem Stehen und Rühren wird die überstehende Lösung durch eine Polyamidsäule gegeben (2 cm hoch, Durchmesser 1,3 cm) und das angefärbte Polyamidpulver mit Wasser in die Säule gespült. Zur Entfernung von Zucker und Säuren wird mit Wasser gewaschen, anschließend mit Äthanol (70 Vol. %) und danach vorhandene Teerfarbstoffe mit Ammoniak-Alkohol-Lösung R 14 oder Ammoniak-Methanol-Lösung R 15 (34) eluiert. Ammoniak und Alkohol werden im Vakuum abgezogen und der verbleibende Farbstoff entweder direkt oder nach nochmaliger Reinigung am Wollfaden (5) chromatographiert. Hierzu wird die wäßrige, erwärmte Farbstofflösung mit einem gereinigten Wollfaden R 16 versetzt und tropfenweise unter Rühren bis zur sauren Reaktion mit Kaliumhydrogensulfatlösung R 17 versetzt. Nach kurzem Aufkochen und längerem Stehen unter gelegentlichem Umrühren wird der angefärbte Wollfaden mit fließendem warmem Wasser ausgewaschen und anschließend mit 5 - 10 ml Ammoniak-Alkohol-Lösung R 14 in der Wärme entfärbt. Der nach dem Eindunsten der Ammoniak-Alkohol-Lösung verbleibende Rückstand wird chromatographiert.

Chromatographie (37,38):

Der verbleibende Rückstand wird in Ammoniak-Alkohol-Lösung R 14, bei schlechter Löslichkeit auch in wäßriger Ammoniak-Lösung R 18, gelöst und auf Filterpapier FP 2 aufgetragen. Es wird in dem Fließmittel F 8 bis zu einer Steighöhe von 25 cm entwickelt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 7 aufgeführt. Patentblau AE und Patentblau V haben in diesem Fließmittel den gleichen hRf - Wert. Bei Gegenwart eines dieser Farbstoffe wird die Farbstofflösung nochmals auf Filterpapier FP 2 aufgetragen und in dem Fließmittel F 9 bis zu einer Steighöhe von 25 cm chromatographiert. Es ergeben sich folgende hRf - Werte:

Patentblau AE 50, Patentblau V 70.

Farbstoffbezeichnung	hRf - Werte	EWG-Nr. (E) bzw. Ordnungs-Nr. nach der Farbstoff-VO (C)	Schultz -Nr.	Colour-Index 1956
Curcumin	3	E 100	1374	(1238) 75300
Tartrazin	79	E 102	737	(640) 19140
Chrysoin S	54	E 103	186	(148) 14270
Chinolingelb	15, 29, 55	E 104	918	(801) 47005
Echtgelb	66	E 105	172	(16) 13015
Gelb 27175 N (L.Gelb 5 Mitt. 9 Farbstoff-Kommission)	53	-	-	-
Naphtholgelb S	53	-	19	10
Gelborange S	(49), 64	E 110	-	15985
Orange GGN	66	E 111	-	15980
Azorubin	28	E 122	208	(179) 14720

Farbstoffbezeichnung	hRf - Werte	EWG-Nr. (E) bzw. Ordnungs-Nr. nach der Farbstoff-VO (G)	Schultz -Nr.	Colour-Index 1956
Amaranth	55	E 123	212	(184) 16185
Cochenilleroth A	72	E 124	213	(185) 16255
Scharlach GN	90	E 125	-	14815
Ponceau GR	83	E 126	215	(186) 16290
Erythrosin	7, (21)	E 127	887	(773) 45430
Rubinpigment BK	36	E 180	194	(163) 15850
Echtrot E	45	-	210	182
Rhodamin B	69 (Fahne)	-	864	749
Eosin	20	-	881	768
Anthrachinon=blau	0	E 130	1228	(1106) 69800
Patentblau V	93	E 131	826	(712) 42051
Indigotin I	24	E 132	1309	(1180) 73015
Patentblau AE	92	-	770	671
Brillantschwarz BN	29	E 151	-	28440
Schwarz 7984	12	E 152	-	-
Schwarz 5410 (Mitt.9 Farb=stoff-Kommission)	4	-	-	-
Lichtgrün SF gelblich	95	-	765	670
Guineagrün B	74	-	764	666
Sudanbraun RR (Mitt.9 Farb=stoff-Kommission)	8	-	-	-
Thiazinbraun R (Mitt.9 Farb=stoff-Kommission)	0	-	-	-

Farbstoffbezeichnung	hRf - Werte	EWG-Nr. (E) bzw. Ordnungs-Nr. nach der Farbstoff-VO (C)	Schultz -Nr.	Colour-Index 1956
Brillantcrocein	30	-	539	27290
Methylviolett B	8 (Fahne)	C 2	783	42535
Viktoriablau R	0	C 3	821	(728) 44040
Viktoriablau B	0	C 4	822	(729) 44045
Acilanbrilliantblau FFR	12	C 5	-	42735
Naphtholgrün B	78	C 7	5	10020
Acilanechtgrün 10 G	56	C 8	-	42170
Ceresgelb GRN	0	C 9	-	21230
Ceresrot G	0	C 10	149	12150
Sudanblau II	0	C 11	-	-
Phthalocyaninblau	0	C 13	-	74100 74140 74160
Phthalocyanin grün	0	C 14	-	74260
Astraphloxin	10	-	930	48070
Ponceau RR	26	-	95	16150
Echtsäureviolett R	48(62)	C 17	871	(758) 45190

Tabelle 7: Papierchromatographie von Farbstoffen

Papier FP 2, Fließmittel F 8

(): Nebenfleck

1.2.2.2 Riboflavin

1.2.2.2.1 Nachweis des Riboflavins durch Fluoreszenz (43)

Ein Teil der schwach sauren, alkohol- und acetonfreien, wäßrigen Lösung wird mit 2 g Bleicherde (Merck) versetzt und 2 Min. lang kräftig geschüttelt. Die Bleicherde wird abzentrifugiert und nach Abdekantieren der klaren, überstehenden Lösung zweimal mit je 20 ml Wasser gewaschen. Danach wird die Bleicherde mit 10 ml Pyridin-Wasser-Eisessig-Lösung R 19 kräftig aufgewirbelt und einige Minuten stehengelassen. Eine gelbe Färbung der Elutionslösung mit gelbgrüner Fluoreszenz zeigt Riboflavin an.

1.2.2.2.2 Papierchromatographischer Nachweis des Riboflavins (44)

Riboflavin wird auf Filterpapier FP 2 aufgetragen und anschließend in dem Fließmittel F 31 chromatographiert: R_f - Wert 65.

1.2.2.3 Curcumin und Bixin

1.2.2.3.1 Analytik von Curcumin und Bixin

Der dünnschichtchromatographische Nachweis der schwach lipophilen Farbstoffe Bixin und Curcumin erfolgt entsprechend Abschnitt 1.1.5.

1.2.3 Formaldehyd

1.2.3.1 Analytik des Formaldehyds (5)

1 ml der wäßrigen Lösung und 1 ml Chromotropsäurelösung R 20 werden in einem Reagenzglas (180 : 20 mm) vermischt und 8 ml 81 proz. Schwefelsäure R 21 zugefügt. Nach dem Umschütteln wird das Reagenzglas in ein Wasserbad von 60°C gestellt. Bei Gegenwart von Formaldehyd ist nach 20 Min. eine violette Färbung entstanden. Bei Gegenwart störender Stoffe werden 10 ml der wäßrigen Lösung destilliert und der Nachweis mit dem Destillat durchgeführt.

1.2.4 Basen und amphotere Elektrolyte

1.2.4.1 Ammoniumionen

1.2.4.1.1 Analytik der Ammoniumionen

Zu einem ml der wäßrigen, sauren Lösung wird etwas Natriumacetat zur Abstumpfung der Säure gegeben. Es werden einige Tropfen NESSLERs-Reagenz R 22 zugefügt. Bei Anwesenheit von Ammonium=ionen entsteht eine mehr oder weniger starke Gelbfärbung, bei größerem Gehalt ein orange- bis braunroter Niederschlag.

1.2.4.2 Cholin

1.2.4.2.1 Nachweis des Cholins

1 ml der wäßrigen, mit Natriumacetat annähernd neutralisierten und mit 2 ml Wasser verdünnten Lösung wird mit einigen Tropfen REINECKESalz-Lösung R 23 versetzt. Bei Gegenwart von Cholin entsteht eine weiße, seidig glänzende Fällung.

1.2.4.3 Chinin

1.2.4.3.1 Nachweis des Chinins durch Fällung (48)

1 ml der wäßrigen, mit Natriumacetat annähernd neutralisierten Lösung wird mit einigen Tropfen MAYERs-Reagenz R 24 oder mit DRAGENDORFFs-Reagenz R 25 versetzt. In beiden Fällen entsteht bei Gegenwart von Chinin eine Fällung.

1.2.4.3.2 Nachweis durch Dünnschichtchromatographie (7)

Die Analysenlösung wird einige Male auf eine Kieselgel-G-Platte P 3 aufgetragen. Als Vergleich wird eine Chininlösung (0,1 g in 100 ml 0,1 n Schwefelsäure) 3 - 4 mal aufgetragen. Entwickelt wird in Fließmittel F 30 bis zu einer Höhe von 10 cm und besprüht mit DRAGENDORFFs-Reagenz R 25. Chinin gibt einen roten Fleck auf gelblichem Grund: R_f - Wert 55.

1.2.4.4 Glutaminsäure

1.2.4.4.1 Nachweis durch Papierchromatographie (19,49)

Die wäßrige Lösung wird als 1,5 cm langer Strich auf Filterpapier FP 3 aufgetragen. Bei 1 proz. Gehalt an Glutaminsäure genügt 1 - 2 maliges Auftragen. Als Vergleich dient eine 1 proz. Lösung der Glutaminsäure in 0,1 n Salzsäure. Entwickelt wird mit dem Fließmittel F 11, die Laufzeit beträgt etwa 12 Stunden. Danach wird das Chromatogramm an der Luft getrocknet und im Anschluß daran mit Ninhydrin-Reagenz R 26 besprüht. Nach 15 - 30 Min. bei 60°C ist bei Gegenwart von Glutaminsäure ein violetter Fleck sichtbar: hRf - Wert 20.

1.2.4.4.2 Nachweis durch Dünnschichtchromatographie (50)

Die Analysenlösung wird einmal auf eine Celluloseplatte P 9 aufgetragen. Es wird bis zu einer Höhe von 15 cm in dem Fließmittel F 21 entwickelt und mit Ninhydrinreagenz R 26 besprüht. Glutaminsäure gibt nach 10 Min. bei 100°C einen violetten Fleck: hRf - Wert 30.

1.2.5 Säuren

1.2.5.1 Konservierungsstoffe

1.2.5.1.1 Qualitative Analytik der Konservierungsstoffe

a) Dünnschichtchromatographische Analyse (52)

Von dem in Äther gelösten Analysenrückstand wird soviel auf eine Polyamidplatte P 6 aufgetragen, wie einer Menge von etwa 50 µg eines Konservierungsstoffes entspricht. Als Vergleich dienen 1 proz. Lösungen der Konservierungsstoffe. Entwickelt wird in den Fließmitteln F 12, F 13 und F 14 bis zu einer Steighöhe von 15 cm. Die Markierung der Flecken auf der lufttrockenen Platte erfolgt im kurzwelligen UV-Licht (254 nm). Anschließend wird mit Wasserstoffperoxid-Eisensalzlösung R 27 besprüht. Die Ergebnisse zeigt Tabelle 8.

Konservierungsstoff	hRf - Werte			Färbung mit Reagenz R 27
	F 12	F 13	F 14	
Sorbinsäure	83	47	89	gelb
Benzoessäure	74	40	83	violettbraun
p-Chlorbenzoessäure	54	32	80	braungelb (schwach)
p-Hydroxybenzoessäure	30	3	4	braunviolett
Salicylsäure	9	8	26	violettbraun
PHB-Methylester	84	24	8	graugrün-graublau
PHB-Äthylester	84	32	12	graugrün-graublau
PHB-Propylester	84	36	15	grau (sehr schwach)
<u>Begleitstoffe</u>				
Vanillin, Äthyl=vanillin	94	69	23	braunviolett
Saccharin	3	0	0	

Tabelle 8: Chromatographie von Konservierungsstoffen
Polyamidplatte P 6, Fließmittel F 12, F 13 und F 14,
Kammersättigung

b) Papierchromatographische Analyse (45)

Von dem in Äther gelösten Analysenrückstand wird soviel auf Filterpapier FP 2 aufgetragen, wie einer Menge von etwa 0,1 mg des Konservierungsstoffes entspricht. Als Vergleich dienen 1 proz. Lösungen der Konservierungsstoffe, von denen etwa 0,01 ml aufgetragen werden. Entwickelt wird absteigend über Nacht mit wassergesättigtem n-Butanol, wobei eine Schale mit 4 n Ammoniak-Lösung in die Trennkammer gestellt wird. Danach wird das lufttrockene Chromatogramm mit Wasserstoffperoxid-Eisensalz-Lösung R 27 besprüht. PHB-Propylester wird im Anschluß daran durch Besprühen mit MILLONs-Reagenz R 28 und 10 min. Erwärmen bei 65°C im Trockenschrank sichtbar gemacht. Die Ergebnisse zeigt Tabelle 9.

Konservierungsstoff	hRf - Werte	Färbung mit	
		Reagenz R 27	R 28
Sorbinsäure	54	gelb	
Benzoesäure	49	violettbraun	
p-Chlorbenzoesäure	60	braungelb (sehr schwach)	
Salicylsäure	59	braunviolett	
p-Hydroxybenzoesäure	10	violettbraun	
PHB-Methylester	73	graugrün - graublau	rötlich
PHB-Äthylester	79	"	"
PHB-Propylester	84	grau (sehr schwach)	rot
Vanillin	43	graubraun	

Tabelle 9: Chromatographie der Konservierungsstoffe
Filterpapier FP 2, Fließmittel: wassergesättigtes
Butanol in Ammoniak-Atmosphäre (absteigend)

1.2.5.1.2 Quantitative Analytik der Konservierungsstoffe

a) Benzoesäure (56)

10,0 ml der benzoesäurehaltigen Ätherlösung (Abschnitt 3.2.2.2a) werden in schräggestelltem 50 ml-Stehkolben mit 6,5 cm langem Hals (Durchmesser 2,9 cm) ohne Wärmezufuhr abgedunstet. Zu dem Trockenrückstand werden 5 ml Nitrieremisch R 29 so zugefügt, daß die Innenwandung des Kolbens hiermit abgespült wird. Dann wird der Kolben 35 Min. im siedenden Wasserbad erhitzt. Während dieser Zeit und besonders zu Beginn wird der Kolben öfters geschwenkt. Nach Ablauf der Nitrierung wird der Kolben unter fließendem kaltem Wasser abgekühlt, 5 ml Wasser zugegeben und abermals gekühlt. Das Gemisch wird in einen 250 ml Scheidetrichter gegeben, der Kolben mit 5 ml Wasser nachgewaschen und das Waschwasser ebenfalls in den Scheidetrichter gegeben. Durch 5 min. Schütteln wird der zu messende Stoff in die Ätherschicht überführt. Man trennt die Ätherschicht von der Wasserphase,

wäscht sie im Scheidetrichter erst mit 20 ml, dann zum zweiten Male mit 10 ml Wasser jedesmal 5 Min. Die auf diese Weise gewonnene Ätherlösung filtriert man durch wasserfreies Natriumsulfat in eine kleine Porzellanschale und wäscht das Natriumsulfat enthaltende Filterpapier mit 10 ml Äther nach. Die Ätherlösung wird auf einem Wasserbad von 35 - 40°C vorsichtig zur Trockene eingedampft. Der Trockenrückstand wird mit Aceton-Alkohol-Reagenz R 30 in einen 10 - 20 ml Meßkolben überführt. Es wird mit dieser Lösung zur Marke aufgefüllt. Je nach dem vor auszusehenden Benzoesäuregehalt werden 0,5 - 5 ml dieser Lösung in ein Reagenzglas mit Schliffstopfen pipettiert, auf 14,7 ml mit Alkohol-Aceton-Reagenz R 30 aufgefüllt und 0,3 ml alkoholische Natronlauge R 31 zugegeben. Der Inhalt wird gemischt, sofort in Eiswasser gestellt und die Extinktion der blauvioletten Lösung nach 50 - 60 Min. gemessen (550 nm, Schichtdicke 0,5 cm). Als Blindwert dient eine Mischung von 14,7 ml Alkohol-Aceton-Reagenz R 30 und 0,3 ml Natronlauge R 31. Der Benzoesäuregehalt wird einer Eichkurve mit 0,1 - 0,5 mg Benzoesäure entnommen.

b) Sorbinsäure

Jeweils 5,0 ml des ersten und zweiten Ätherextraktes (Abschnitt 3.2.2.2a und b) werden vorsichtig, dem erwarteten Sorbinsäuregehalt entsprechend in einen 100 - 500 ml Meßkolben pipettiert, der zu etwa zwei Drittel mit Wasser von 60°C gefüllt ist. Es wird hierbei zur Lösung der Sorbinsäure und zur Verdampfung des Äthers leicht geschwenkt. Der Kolben wird bei 20°C mit Wasser zur Marke aufgefüllt.

2 ml der wäßrigen Lösung werden zur kolorimetrischen Bestimmung (57) in ein eigens angefertigtes Reagenzglas mit Schliffstopfen von 35 cm Länge und 13 mm Durchmesser pipettiert, 2 ml schwefelsaure Kaliumdichromatlösung R 32 zugegeben, durchmischt und 5 Min. im siedenden Wasserbad erhitzt. Danach werden 2 ml Thio-barbitursäurelösung R 33 zugegeben und weitere 10 Min. erhitzt. Nach Ablauf dieser Zeit wird das Reagenzglas unter fließendem Wasser abgekühlt und die Extinktion der rotgefärbten Lösung

gemessen (530 nm, Schichtdicke 2 cm). Als Blindwert wird eine gleichzeitig mit 2 ml Wasser angesetzte Lösung verwendet. Der Sorbinsäuregehalt wird einer Eichkurve mit 2 - 10 μ g Sorbinsäure entnommen.

1.2.5.2 Niedere Fettsäuren (1 C - 3 C)

1.2.5.2.1 Qualitative Analytik niederer Fettsäuren (19)

10 ml der fettsäurehaltigen Ätherlösung werden mit einer zur Methylierung ausreichenden Menge Diazomethanolösung R 34 versetzt. Nach Abschluß der Reaktion wird ein etwa vorhandener Überschuß an Diazomethan im Luftstrom abgezogen und danach die Ätherlösung mit 1 ml Hydroxylaminlösung II R 35 vermischt. Man läßt das Gemisch 30 Min. bei 25°C stehen und setzt dann 0,08 ml Eisessig hinzu. Das abgeschiedene Natriumacetat wird abfiltriert und das Filtrat 4 bis 8 mal punktförmig oder als 1,5 cm langer Strich auf Filterpapier FP 2 aufgetragen. Als Vergleich dienen etwa 1 proz., gleichartig behandelte Lösungen von Ameisen-, Essig-, Milch- und Propionsäure. Entwickelt wird mit dem Fließmittel F 6 bis zu einer Steighöhe von 20 cm. Das Chromatogramm wird nach dem Trocknen an der Luft beidseitig mit Eisenchlorid-Lösung II R 9 besprüht. Die Ergebnisse zeigt Tabelle 10.

Fettsäure	hRf - Werte
Ameisensäure	35
Essigsäure	49
Propionsäure	64
Begleitstoff:	
Milchsäure	37

Tabelle 10: Papierchromatographie der Hydroxamsäuren
niederer Fettsäuren und der Milchsäure
Papier FP 2, Fließmittel F 6

1.2.5.2.2 Quantitative Analytik von Ameisensäure

50,0 ml der Ätherlösung (Abschnitt 3.2.2.2b) bzw. 10,0 - 25,0 ml der Ätherlösung (Abschnitt 3.2.2.2a) werden im Scheidetrichter mit 20 ml 1 n Natronlauge kräftig durchgeschüttelt. Die wäßrige Phase wird abgelassen und die Ätherschicht noch zweimal mit je 10 ml Wasser gewaschen und verworfen. Die vereinigten wäßrigen Lösungen werden mit 20 ml 1 n Salzsäure versetzt, durchmischt und durch ein angefeuchtetes Filter in einen 250 ml-Rundkolben filtriert. Es wird mit 10 ml Wasser nachgewaschen. Das Filtrat wird mit einigen Tropfen 1 n Natronlauge alkalisch gemacht und der in der wäßrigen Lösung noch vorhandene Äther am Rotationsverdampfer abgezogen. Danach wird die wäßrige Lösung mit 20 proz. Essigsäure schwach angesäuert ($\sim$ pH 5).

Zur gewichtsanalytischen Bestimmung der Ameisensäure (5) werden 3 - 5 g Natriumacetat, wasserfrei, sowie das mindestens 15-fache der Ameisensäuremenge betragende Gewicht Quecksilber(II)-chlorid in Form der Quecksilber(II)-chlorid-Lösung R 36 hinzugesetzt, der Kolben mit einem Rückflußkühler oder einem 30 - 40 cm langen Steigrohr verbunden und zwei Stunden im siedenden Wasserbad erhitzt. Der Kolben soll hierbei bis an den Hals in das Wasser eintauchen. Danach wird das ausgeschiedene Quecksilber(I)-chlorid durch einen G 4-Tiegel abgesaugt, zunächst mit warmem Wasser, darauf mit Alkohol und zuletzt mit Äther gewaschen. Der 45 - 60 Min. im Trockenschrank bei 105°C getrocknete Tiegel wird nach dem Erkalten gewogen. $1 \text{ g HgCl}_2 = 0,09771 \text{ g Ameisensäure}$.

1.2.5.3 Hydroxycarbonsäuren

1.2.5.3.1 Analytik der Hydroxycarbonsäuren

a) Papierchromatographische Analyse

Der die organischen Säuren enthaltende Rückstand wird in 5 - 8 Tropfen Methanol gelöst und 4 - 5 mal auf Filterpapier FP 2 aufgetragen. Als Vergleich dienen 5 proz. Lösungen der

organischen Hydroxycarbonsäuren in Wasser, die einmal aufgetragen werden. Entwickelt wird in dem Fließmittel F 15 (59) bis zu einer Steighöhe von etwa 24 cm. Ein zweites Chromatogramm wird in dem Fließmittel F 16 entwickelt. Die Chromatogramme werden mit Acridinlösung R 37 besprüht, nachdem sie zuvor ausreichend an der Luft, zweckmäßig über Nacht, getrocknet sind. Es dürfen in den Papieren keine Reste von Ameisensäure oder Ammoniak vorhanden sein. Die Markierung der gelben Säureflecken erfolgt unter der UV-Lampe. Im Anschluß daran werden die Chromatogramme mit Natriumperjodat-Benzidin-Lösung R 8 besprüht. Die Ergebnisse zeigt Tabelle 11.

Säure	hRf - Werte		Farbe des Säureflecks mit Natriumperjodat- Benzidin-Reagenz R 8
	F 15	F 16	
Weinsäure	34	27	weiß, dann gelb
Zitronensäure	46	6	blau
Äpfelsäure	58	27	blau
Fumarsäure	100	39	blau
Milchsäure	88	60	blau
Cyclohexyl- sulfaminsäure	91	75	blau
Bernsteinsäure	85	39	blau
Glukonsäure	10	33	weiß, dann gelbbraun
Begleitstoffe:			
Sulfat		10	blau
Chlorid		65	blau
Nitrat		73	blau

Tabelle 11: Papierchromatographie von organischen Säuren
Papier FP 2, Fließmittel F 15 und F 16;

- b) Dünnschichtchromatographischer Nachweis von Glukonsäure in schnittfester Rohwurst (64)

1 - 2 μ l der wäßrigen, etwa 1 % Glukonsäure enthaltenden Lösung

werden auf eine Kieselgur-G-Platte P 1 aufgetragen. Als Vergleich dient eine 1 proz. Lösung des Natriumsalzes der Glukonsäure. Entwickelt wird in dem Fließmittel F 29 bis zu einer Steighöhe von 10 cm. Die lufttrockene Platte wird mit Natriumperjodat-Benzidin-Reagenz R 8 angefärbt. Glukonsäure gibt einen weißen, gelb-braun werdenden Fleck: R_f - Wert 60.

1.2.5.4 Süßstoffe - Saccharin und Natriumcyclamat

1.2.5.4.1 Analytik von Saccharin (62)

Ein Teil der Analysenprobe wird nach Lösung in wenig Äther auf eine Cellulosepulver-Polyamid-Platte P 7 aufgetragen. Als Vergleich dienen 2 μ l einer 0,5 proz. Saccharinlösung in Methanol. Es wird in dem Fließmittel F 17 bis zu einer Steighöhe von 15 cm entwickelt, nach dem Trocknen der Platte an der Luft mit Dichlorfluorescein-Lösung R 38 besprüht und das Chromatogramm unter dem UV-Licht ausgewertet. Saccharin gibt einen Fleck mit dem R_f - Wert 52. Nach längerem Liegen der Platte erscheint dieser Fleck bei Tageslicht weiß auf orangefarbenem Grund.

1.2.5.4.2 Analytik von Natriumcyclamat

Die Analytik erfolgt nach Abschnitt 1.2.5.3.1a

1.2.5.5 Anorganische Säuren

Der Nachweis von Chlorid, Nitrat und Phosphat erfolgt auf herkömmliche Weise. Bei positivem Phosphatnachweis wird die Art des vorhandenen Phosphats durch direkte Prüfung in dem Lebensmittel festgestellt (69):

Beispielsweise werden 20 g zerkleinerte Wurst mit soviel Wasser verrührt, daß ein Wassergehalt von etwa 50 % entsteht, 4 g Trichloressigsäure zugegeben und die Mischung unter Umrühren kurz auf 30 - 40°C erwärmt. Danach wird auf 4 - 8°C abgekühlt, durch ein Blaubandfilter filtriert und 0,01 ml auf ein segmentiertes Rundfilter FP 4 1 cm vom Mittelpunkt aufgetragen. Als Vergleich dienen 0,5 proz. wäßrige Lösungen von Orthophosphat, Pyrophosphat,

Polyphosphat und Metaphosphat. Das Chromatogramm wird in dem Fließmittel F 18 bis zum Erreichen des Kammerrandes entwickelt und danach im warmen Luftstrom getrocknet. Besprüht wird mit Ammoniummolybdat-Lösung I R 39 und bis zum Verschwinden des Säuregeruchs etwa 10 Min. bei 105°C im Trockenschrank getrocknet. Bei Gegenwart von Phosphaten erscheinen gelbe Kreisbogen, die beim Besprühen mit Eikonogenreagenz R 40 blau werden. Die Anfärbung des brüchig gewordenen Papiers mit Eikonogenreagenz erfolgt zweckmäßig erst nach längerem Nachtrocknen an der Luft. Die Ergebnisse sind in Tabelle 12 aufgeführt.

Phosphat	hRf - Werte
Dinatriumhydrogenphosphat (Na_2HPO_4)	86
Tetranatriumpyrophosphat ($\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$)	74
Pentatriumtripolyphosphat ($\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$)	61
Natriumhexametaphosphat	0

Tabelle 12: Papierchromatographie von Phosphaten
Filterpapier FP 4, Fließmittel F 18

1.2.6 Neutralstoffe

1.2.6.1 Antioxydantien - Butylhydroxyanisol

Der Nachweis wird nach Abschnitt 1.2.1.1 ausgeführt. BHA wird auch bei der chromatographischen Analyse nach Abschnitt 1.2.6.2.1a sichtbar.

1.2.6.2 Konservierungsstoffe - Ester der p-Hydroxybenzoesäure und Fruchtbehandlungsstoffe

1.2.6.2.1 Analytik der Konservierungsstoffe für Fruchtschalen

a) Chromatographische Analyse (72)

Ein Teil des in Äther bzw. Aceton gelösten Analysenrückstandes wird auf Filterpapier FP 5 aufgetragen. Als Vergleich

dienen 1 proz. Lösungen von o-Phenylphenol, Thioharnstoff und Diphenylamin sowie eine 5 proz. Lösung von Diphenyl. Entwickelt wird mit Fließmittel F 19 bis zu einer Steighöhe von 15 cm, nachdem zuvor die Kammer mit Methanol-Wasser 2 + 8 gesättigt worden war. Danach wird das noch feuchte Chromatogramm mit 2,4,7-Trinitrofluorenon-Lösung R 41 besprüht und im UV-Licht erscheinende Flecken markiert. Im Anschluß daran wird mit 2,6-Dibromchinonchlorimid-Lösung R 42 besprüht und das Papier in eine Kammer gehalten, auf deren Boden ein mit 25 proz. Ammoniakflüssigkeit beschicktes Becherglas steht. Hierbei entstehende Flecken werden markiert und das Chromatogramm nunmehr in Höhe des Diphenylaminflecks mit Wasserstoffperoxid-Salpetersäure-Reagenz R 43 besprüht. Die Ergebnisse zeigt Tabelle 13.

Fruchtbehandlungs- stoff	Färbung mit			hRf - Werte
	R 41	R 42	R 43	
Diphenyl	Tageslicht: gelblich UV-Licht: orange (254 nm: rötlich)	gelblich	nicht sichtbar	20
Diphenylamin	Tageslicht: schwach violett	unverändert	stark blau	37
o-Phenyl- phenol	farblos	blau	entfärbt	65
Thioharn- stoff	farblos	violett	entfärbt	65
Begleitstoff:				
Butylhydroxy- anisol	farblos	dunkelblau	entfärbt	64

Tabelle 13: Papierchromatographie von Fruchtbehandlungsstoffen
Papier FP 5, Fließmittel F 19

b) Kolorimetrische Analyse von Diphenyl in Zitrusfruchtschalen

50,0 ml des Tetrachlorkohlenstoffeluats der Kieselgelsäule (Abschnitt 3.5.1.3) werden in einem 250 ml-Kolben im Vakuum bei 30 - 35°C Wasserbadtemperatur bis auf etwa 2 ml eingengt. Hierzu werden, unter Abspülung der Kolbenwandungen, 30 ml Chloroform gegeben.

Zur kolorimetrischen Bestimmung (75) wird nach Zugabe von 6 ml Salpetersäure (98,6 %) und einem Siedestein 25 Min. auf dem Wasserbad am Rückflußkühler gekocht. Nach kurzem Abkühlen wird die Chloroformlösung in einen Scheidetrichter überführt und dort zunächst einmal mit 500 ml Wasser, darauf einmal mit 200 ml 0,02 n Natronlauge und schließlich noch zweimal mit je 500 ml Wasser gewaschen. Nach Verwerfen der Waschflüssigkeit wird das Chloroform in einem 100 ml Erlenmeyerkölbchen auf dem Wasserbad verdampft. Die zurückbleibenden Nitroderivate des Diphenyls werden in 5 ml Eisessig unter schwachem Erwärmen gelöst und nacheinander mit 10 ml 6 n HCl und 1,0 g Zinkpulver versetzt. Wenn die anfangs sehr stürmische Wasserstoffentwicklung nachgelassen hat, wird während 10 Min. öfter umgeschüttelt und nach Verdünnen der sauren Lösung mit 50 ml Wasser durch ein Filter in einen 500 ml Meßkolben filtriert. Es wird mit 200 ml Wasser nachgewaschen und die Lösung unter Umschwenken mit 8 ml Natriumnitrit-Lösung R 44 versetzt. Nach 10 Min. werden 10 ml Ammoniumsulfamat-Lösung R 45 zugefügt und die Lösung unter mehrmaligem Umschütteln weitere 10 Min. stehengelassen. Schließlich werden 9 ml N-(1-Naphthyl)-äthylendiamindihydrochlorid-Lösung R 46 zugegeben. Nach weiteren 10 Min. wird mit Wasser zur Marke aufgefüllt, umgeschüttelt und die Extinktion der Farblösung bei 560 nm in Küvetten mit einer Schichtdicke von 0,5 cm gemessen. Die entsprechenden Diphenylmengen werden einer Eichkurve entnommen, zu deren Herstellung Diphenylmengen von 1 - 4 mg/500 ml der Farblösung eingesetzt wurden. Bei einer Einwaage von 20 g Zitrusfruchtschalen zu Beginn des Trennungsganges entspricht die festgestellte Diphenylmenge

dem Diphenylgehalt von 10 g Schalen. Die Umrechnung auf den Diphenylgehalt der Früchte erfolgt unter Berücksichtigung ihres Schalenanteils.

c) Kolorimetrische Analyse von o-Phenylphenol in Zitrusfruchtschalen

50,0 ml des Benzoleluates der Kieselgelsäule (Abschnitt 3.5.1.3) werden in einem Scheidetrichter zweimal je 3 Min. lang mit 20 ml 0,25 n Natronlauge geschüttelt. Die Lauge wird anschließend gleich in einen zweiten Scheidetrichter abgelassen, der 40 ml 0,5 n Schwefelsäure enthält. Die saure Lösung wird zweimal je 3 Min. lang mit 5 ml Petroläther (Siedepunkt bis etwa 40°C) geschüttelt. Die vereinigten Petrolätherauszüge werden nach Zugabe von 1 ml Isopropanol an der Luft eingedunstet, wobei ein Trockenwerden des Rückstandes vermieden wird.

Zur kolorimetrischen Bestimmung (75) wird der Rückstand mit 5,25 ml Isopropanol in einen 25 ml Meßkolben überführt und 2,5 ml Methanol sowie 0,5 ml 0,1 n Natronlauge zugegeben. Unter Umschwenken werden 2,5 ml Echtblausalz B-Lösung R 47 zu der Lösung pipettiert, die nach 10 Min. mit wäßrigem Methanol R 48 auf 25 ml aufgefüllt wird. Nach weiteren 5 Min. wird die Extinktion der Farblösung bei 480 nm (Küvetten-Schichtdicke 0,5 cm) bestimmt. Die der Extinktion entsprechende o-Phenylphenolmenge wird einer Eichkurve entnommen, zu deren Herstellung o-Phenylphenolmengen von 0,05 bis 0,5 mg/25 ml Meßlösung eingesetzt wurden. Bei einer Einwaage von 20 g Zitrusfruchtschalen zu Beginn des Trennungsganges entspricht die festgestellte o-Phenylphenolmenge dem Gehalt in 10 g Schalen. Die Umrechnung auf den o-Phenylphenolgehalt der Früchte erfolgt unter Berücksichtigung ihres Schalenanteils.

1.2.6.2.2 Analytik der Ester der p-Hydroxybenzoesäure

Die PHB-Ester werden nach Abschnitt 1.2.5.1.1 nachgewiesen.

1.2.6.3 Aromastoffe - Vanilline

1.2.6.3.1 Analytik der Vanilline (78)

Ein Teil des in Äther gelösten Analysenrückstandes wird auf Filterpapier FP 2 aufgetragen. Als Vergleich dienen 1 proz. alkoholische Lösungen von Vanillin und Äthylvanillin. Das Chromatogramm wird in eine Kammer gestellt, in der sich ein Becherglas mit Wasser und ein Becherglas mit Petroläther (Siedepunkt bis etwa 40°C) befinden. Zur Sättigung wird mindestens 2 Stunden, besser über Nacht, stehengelassen und danach in 10 - 15 Min. mit Petroläther (40 - 60°C) bis zu einer Steighöhe von 10 cm entwickelt. Das Papier wird danach aus der Kammer genommen, durch Schwenken an der Luft getrocknet und mit Hydrazinsulfat-Lösung R 49 oder Benzidin-Lösung R 50 besprüht. Die Ergebnisse zeigt Tabelle 14.

Geschmacksstoff	hRf - Werte	Färbung mit	
		R 49	R 50
Vanillin	13	zitronengelb	orange gelb
Äthylvanillin	46	zitronengelb	orange gelb

Tabelle 14: Papierchromatographie von Vanillinen

Papier FP 2, Fließmittel: Petroläther (40 - 60°C)
nach Kammersättigung

1.2.6.4 Süßstoffe - Dulcin

1.2.6.4.1 Nachweis durch Dünnschichtchromatographie (62)

Bei der entsprechend Abschnitt 1.2.5.4.1 durchgeführten Analyse des Analysenrückstandes gibt Dulcin einen Fleck mit dem hRf - Wert 67. Dieser erscheint nach einiger Zeit bei Tages=

licht schwach rötlich auf orangefarbenem Grund.

1.2.6.4.2 Nachweis durch Farbreaktion

Die Analysenlösung wird auf Filterpapier FP 2 getropft. Nach dem Trocknen des Fleckes wird dieser mit Salpetersäure-Aceton-Reagenz R 51 (80) befeuchtet. Bei Gegenwart von Dulcin entsteht eine gelbe bis orangegelbe Färbung.

1.2.6.5 Emulgatoren - Lecithin und nichtionogene Emulgatoren

1.2.6.5.1 Analyse der Emulgatoren als Gesamtmolekül

- a) Nachweis von Lecithinen, Monoglyceriden, Sorbitanfettsäureestern, Polyglycerinfettsäureestern, Propylenglykolfettsäureestern

Bei dem nach Abschnitt 1.1.2.1 durchgeführten Nachweis werden die in Tabelle 15 aufgeführten Ergebnisse erhalten.

Emulgator	hRf - Werte	Färbung der Flecken
Lecithine	0 (mit Fahne)	gelbweiß
Monoglyceride	30	weiß
Sorbitanfettsäureester	6	weiß - gelblich
Propylenglykolfettsäureester	77	grünblau
Polyglycerinfettsäureester	0,4,7,12,20,25	weiß
Weinsäureglyceride	0,7,10,23	weiß
Zitronensäureglyceride	0 (Fahne)	undurchsichtig, weiß

Tabelle 15: Chromatographische Analyse von Emulgatoren
Kieselgel-G-Platte P 3, Fließmittel F 4

b) Nachweis von Polyoxyäthylen-Sorbitanfettsäureestern (85)

Auf noch feuchtes, mit Dimethylformamid imprägniertes Filterpapier FP 6 wird ein Teil der in Aceton gelösten Analysesubstanz aufgetragen. Als Vergleich dienen 0,3 · 1 einer 10 proz. Lösung von Polyoxyäthylen-Sorbitanfettsäureester in Methanol oder Aceton. Entwickelt wird 30 Min. lang aufsteigend in dem Fließmittel F 20, wonach dann die nicht sichtbare Fließmittelfront bei 20 cm liegt. Anschließend wird das Chromatogramm 2 - 3 Stunden bei 100°C getrocknet und dann mit modifiziertem DRAGENDORFF-Reagenz R 52 besprüht. Bei positivem Ausfall erscheint ein orangeroter Fleck (hRf - Wert 40).

1.2.6.5.2 Chromatographische Analyse der Verseifungsprodukte

a) Nachweis der Fettsäuren (11)

Die Analyse wird nach Abschnitt 1.1.1.1.2 durchgeführt, jedoch werden von den insgesamt 5 ml Lösung des Hydroxamsäureansatzes 0,5 ml abpipettiert, mit 0,05 ml Eisessig-Tetrahydrofuranlösung R 3 versetzt und zur Analyse der Fettsäuren entsprechend Abschnitt 1.1.1.1.2 verwendet.

b) Nachweis der neutralen Spaltprodukte Sorbitan, 1,2-Propylenglykol, Glycerin, Polyglycerin und Polyoxyäthylen-Sorbitan (11).

Die nach a) noch verbleibenden 4,5 ml des Hydroxamsäureansatzes werden durch tropfenweisen Zusatz einer Suspension von Kationenaustauscher I-H-Form R 96 gegen Universalindikatorpapier deutlich angesäuert und die Suspension im Trockenschrank bei 110 - 120°C eingedunstet, ein längeres Erhitzen des trockenen Rückstandes ist zu vermeiden. Der Rückstand wird in 3 ml Wasser suspendiert und durch ein kleines, trockenes, glattes Filter in ein kleines Reagenz-

glas filtriert. Mit 1 ml Wasser werden Rückstand und Filter nachgespült. Der Nachweis von Polyoxyäthylen-Sorbitan in dieser Lösung erfolgt nach c). Zum Nachweis der anderen Spaltprodukte wird die Lösung als 1,5 cm langer Strich 4 - 8 mal auf Filterpapier FP 2 aufgetragen, als Vergleich dienen in gleicher Weise angesetzte Proben der Emulgatoren sowie 1 proz. Glycerin- und Sorbitlösungen. Entwickelt wird aufsteigend über Nacht mit dem Fließmittel F 21 bis zu einer Steighöhe von 25 - 30 cm. Das getrocknete Chromatogramm wird danach mit Natriumperjodat-Benzidin-Lösung R 8 (18) besprüht. Das Ergebnis zeigt Tabelle 16.

Verseifungsprodukt	hRf - Werte
Glycerin	51
Sorbit	18
1,2-Propylenglykol	82
Sorbitan und Isosorbit	35 u. 40
Polyglycerin	~ 48 (zungenartiger Fleck)
Lecithin-Spaltprodukte	7 u. 14

Tabelle 16: Chromatogramm von Polyalkoholen
Papier FP 2, Fließmittel F 21

Wird der Hydroxamsäureansatz mit dem Methanolextrakt der Fettphase durchgeführt, ergibt das aus eventuell dort vorhandenem Weinsäureglycerid entstehende Reaktionsprodukt der Weinsäure einen gelben, zungenartigen Fleck mit dem hRf - Wert 23.

Die Chromatographie von Polyglycerin wird gegebenenfalls nach Abschnitt 1.2.6.7.1a wiederholt.

c) Nachweis von Polyoxyäthylen-Sorbitan (11)

Die zum Nachweis der neutralen Spaltprodukte nach b) verwendete Lösung wird 4 bis 8 mal als 1,5 cm langer Strich auf ein Filterpapier FP 2 aufgetragen und aufsteigend über Nacht in dem Fließmittel F 23 bis zu einer Steighöhe von 25 - 30 cm entwickelt. Als Vergleich dient in gleicher Weise angesetzter Polyoxyäthylen-Sorbitanfettsäureester. Das lufttrockene Chromatogramm wird beidseitig mit modifiziertem DRAGENDORFF-Reagenz R 52 besprüht. Polyoxyäthylen-Sorbitane ergeben weinrote Flecken mit dem R_f - Wert ~ 65 .

d) Nachweis der Phosphorsäure

Mit der nach Durchführung der Untersuchungen nach b) und c) noch verbleibenden Lösung wird der Phosphatnachweis in herkömmlicher Weise als Ammoniumphosphormolybdat durchgeführt. Bei Gegenwart von Phosphorsäure aus Lecithinen entsteht eine gelbe Färbung bzw. ein gelber Niederschlag.

1.2.6.6 Zucker

1.2.6.6.1 Qualitative Analytik der Zucker (87)

Die wäßrige Analysenlösung, die etwa 1 proz. an jedem nachzuweisenden Zucker sein soll, wird 1 - 2 mal auf ein Filterpapier FP 4 aufgetragen. Als Vergleich dienen 1 proz. wäßrig-alkoholische Zuckerlösungen. Es wird zweimal in dem Fließmittel F 22 entwickelt und nach dem Trocknen des Chromatogramms mit phosphorsaurem Diphenylamin-Anilin-Reagenz R 53 besprüht. Die Ergebnisse zeigt Tabelle 17.

Zucker	hRf - Werte	Farbe
Mannose	71	graubraun
Fruktose	70	hellbraun
Glukose	68	dunkelbraun
Sorbose	67	gelbbraun
Saccharose	65	mittelbraun
Maltose	56 (Nebenfleck 44)	blau
Laktose	48	graubraun
Stärkesirup	66 (Glukose)	dunkelbraun
	53 (Maltose)	blau
	42 (höhere Maltosen)	blau
	32 (höhere Maltosen)	blau
	22 (höhere Maltosen)	blau
	0 (mit Fahne, Dextrin)	blau

Tabelle 17: Papierchromatographie von Zuckern

Papier FP 4, Fließmittel F 22, zweimal entwickelt

1.2.6.6.2 Quantitative Analytik der Zucker

a) Refraktometrische und pyknometrische Bestimmung

Die nach Abschnitt 3.2.2.3 mit Äther ausgeschüttelte und zur Trockene gebrachte Neutralstoff-Fraktion wird in Wasser aufgenommen und ohne Filtration je nach Rückstandsmenge auf 1,0 bis 100,0 g mit Wasser verdünnt. In dieser Lösung wird der Extraktgehalt refraktometrisch oder pyknometrisch bestimmt. Bei Abwesenheit anderer Neutralstoffe entspricht dieser dem Zuckergehalt.

Wurden beispielsweise 50 g eines Lebensmittels zu Beginn des Trennungsgangs eingewogen, die wäßrige Phase auf 250 ml aufgefüllt und 125 ml hiervon zur Trennung am Ionenaustauscher eingesetzt, so entspricht der Extraktgehalt der mit Wasser auf 25 g verdünnten wäßrigen Neutralstoff-Fraktion dem Ex=

trakt- bzw. Zuckergehalt des Lebensmittels.

b) Die polarimetrische Bestimmung erfolgt in üblicher Weise nach (5).

c) Nachweis einer Stärkesirupbehandlung bei Reis

Die von 50 g Reis nach Abschnitt 3.5.2.2 erhaltene wäßrig-al-koholische Lösung wird zur Trockene gebracht, der Rückstand in 3 ml Wasser aufgenommen und unter Nachspülen bis zu insgesamt 8,5 ml Wasser in ein 10 ml Meßkölbchen überführt. Es werden unter Umschwenken 0,5 ml Kaliumferrocyanid-Lösung R 54, 0,5 ml Zinksulfat-Lösung R 55 und 4 - 5 Tropfen Natronlauge R 56 zugegeben. Anschließend wird zur Marke aufgefüllt, durchmischt und, gegebenenfalls unter leichtem Nachpressen, filtriert. Die Filtratmenge soll 7 ml betragen. Der Extraktgehalt wird refraktometrisch bestimmt und hiervon der Extraktgehalt eines Blindwertes abgezogen. Der Extraktgehalt E auf 100 g Reiskörnern ist dann

$$E = E_{\text{kor.}} \times 0,2 \quad (g)$$

0,01 - 0,02 ml der wäßrigen Lösung werden entsprechend Abschnitt 1.2.6.6.1 papierchromatographiert. Bei positivem Stärkesirup-nachweis werden 6 ml der Lösung in ein 10 ml Meßkölbchen pipettiert, 0,5 ml 1 n Salzsäure zugegeben und das Kölbchen 30 Min. im siedenden Wasserbad erhitzt. Danach wird bei 20°C mit Wasser zur Marke aufgefüllt und die Drehung der Lösung im 100 mm-Rohr festgestellt.

Die Drehung P_n einer 10 proz. (Reiskörner-) Lösung im 200 mm-Rohr wird durch Multiplikation der erhaltenen Polarisierung mit 0,067 erhalten, der Stärkesirupgehalt wie üblich errechnet (5):

$$3,5 \times P_n + 0,15 \times E = \text{g Stärkesirup auf 100 g Reiskörnern}$$

E: refraktometrisch ermittelter Extraktgehalt in g auf 100 g Reiskörnern.

Ein etwa vorhandener Dextringehalt des Stärkesirups wird hierbei vernachlässigt.

1.2.6.7 Polyalkohole - Glycerin, Glykole, Zuckeralkohole

1.2.6.7.1 Analytik der Polyalkohole

a) Papierchromatographischer Nachweis von Polyalkoholen (86)

Die wäßrige Analysenprobe wird auf Filterpapier FP 2 aufgetragen. Als Vergleich dienen 1 proz. Lösungen von Glukose, Sorbit, Mannit, Glycerin, Äthylenglykol, 2,3-Butandiol, 1,2-Propylenglykol und Polyglycerin. Es wird absteigend in einer Kammer chromatographiert, in der sich eine mit Methyläthylketon gefüllte Schale befindet. Man läßt das Papier zur Sättigung 4 - 5 Stunden in der Kammer hängen und entwickelt sodann mit dem Fließmittel F 24 bis zu einer Länge von etwa 45 cm. Bei zweimaligem Lauf wird das Chromatogramm zwischenluftgetrocknet, bei einem Durchlaufchromatogramm zur besseren Trennung von Mannit und Sorbit wird 16 - 18 Stunden entwickelt. Das lufttrockene Chromatogramm wird mit Natriumperjodat-Benzidin-Reagenz R 8 besprüht. Die Ergebnisse zeigt Tabelle 18.

Polyalkohol	hRf - Werte		R Glukose - Werte Durchlaufchromatogramm
	einmal chroma- tographiert	zweimal chromato- graphiert	
Glukose			1,00
Zucker (Glukose, Fruktose, Saccharose)	bis 6		
Mannit, Dulcit	10	20	1,83
Sorbit	12		2,06
Glycerin	31	46	
Polyglycerin	0,3,8,17,31	2,5,9,15,27,46	
Äthylenglykol	51		
1,2-Propylenglykol	64		
2,3-Butylenglykol	75		

Tabelle 18: Papierchromatographie von Polyalkoholen
Papier FP 2, Fließmittel F 24

b) Papierchromatographie von Glykolen und Glycerin (92)

Die wäßrige Analysenlösung wird auf Filtrierpapier FP 2 aufgetragen, als Vergleich dienen 1 proz. Lösungen der Glykole sowie des Glycerins. Es genügt einmaliges Auftragen, die Lösungen von Diäthylenglykol und 1,3-Butylenglykol müssen jedoch mindestens fünfmal aufgetragen werden. Es wird aufsteigend etwa 5 1/2 Stunden in dem Fließmittel F 25 entwickelt, das Chromatogramm nach Trocknen bei Zimmertemperatur mit Silbernitrat-Lösung R 57 besprüht und 20 Min. im Trockenschrank bei 105°C erhitzt. Die Glykole und Glycerin erscheinen als schwarze und braunschwarze Flecken auf hellbraunem Grund. Das Ergebnis zeigt Tabelle 19.

Glykole und Glycerin	hRf - Werte
Glycerin	68
Äthylenglykol	76
1,2-Propylenglykol	80
Diäthylenglykol	80
2,3-Butylenglykol	84
1,3-Butylenglykol	86
Begleitstoff:	
Glukose	46

Tabelle 19: Papierchromatographie von Glykolen und Glycerin
Papier FP 2, Fließmittel F 25

c) Dünnschichtchromatographie von Glykolen und Glycerin (7)

Die wäßrige Analysenlösung wird auf eine Kieselgel-G-Platte P 8 aufgetragen. Als Vergleich dienen, einmal aufgetragen, 1 proz. Lösungen von Glycerin, Äthylenglykol, 1,2-Propylenglykol und 2,3-Butylenglykol. Entwickelt wird mit dem Fließmittel F 26 bis zu einer Steighöhe von 15 cm. Das Chromato-

gramm wird mehrere Stunden, am besten über Nacht, an der Luft getrocknet und sodann mit Natriumperjodat-Benzidin-Lösung R 8 besprüht. Die Ergebnisse zeigt Tabelle 20.

Glykole und Glycerin	hRf - Werte
Glycerin	26
Äthylenglykol	52
1,2-Propylenglykol	66
2,3-Butylenglykol	76
Begleitstoffe:	
Mannit	2
Sorbit	2
Glukose	2
Laktose	0

Tabelle 20: Dünnschichtchromatogramm von Glykolen und Glycerin
Kieselgel-G-Platte P 8, Fließmittel F 26

1.3 Analytik hochmolekularer hydrophiler und unlöslicher Inhalts- und Zusatzstoffe

1.3.1 Unlösliche pflanzliche Gewebebestandteile

1.3.1.1 Analytik der Zellbestandteile

Ein Teil der wasserunlöslichen Bestandteile wird auf einen Objektträger gebracht, mit einem Tropfen Wasser oder Chloralhydratlösung R 58 versetzt und mikroskopisch auf pflanzliche Gewebelemente untersucht. Es werden entsprechende Vergleichspräparate verwendet.

1.3.2 Eiweißstoffe bzw. Quellstoffe auf Eiweißbasis

1.3.2.1 Analytik von Milcheiweiß (97,99)

Reinigung des Phosphorproteids und Abspaltung des Proteid=phosphors:

0,5 - 1 g der lufttrockenen Probe werden in ein Zentrifugen=glas eingewogen, in der Wärme mit 20 ml Benzol-Methanol-Mischung R 59 verrührt, 15 Min. stehengelassen und sodann mit 3000 U/Min. zentrifugiert. Die überstehende Benzol-Methanol-Mischung wird vorsichtig abdekantiert und verworfen. Die Extraktion mit dieser Mischung wird noch zweimal wiederholt. Danach wird der Rück=stand in 5 ml Wasser suspendiert und mit 15 ml Trichloressig=säure-Lösung R 60 versetzt, deren Temperatur höchstens 5°C betragen darf. Die ausgefallenen Eiweißstoffe werden abzentrifugiert und die überstehende Lösung abdekantiert und verworfen. Der Rückstand wird mit 20 ml Trichloressigsäure-Lösung R 61 verrührt und genau 15 Min. in einem Wasserbad von 90°C erhitzt, danach abgekühlt und abzentrifugiert. Nach nochmaligem Auswaschen mit 20 ml Trichloressigsäure-Lösung R 61 wird erneut abzentrifugiert. Der das Phosphorprotein enthaltende Rückstand wird mit 20 ml 1 n Natronlauge in ein 100 ml Polyäthylen-Fläschchen überführt und 16 Stunden bei verschlossener Flasche im Wasserbad von 60 - 80°C erwärmt. Danach wird die Lösung mit 10 proz. Salzsäure gegen Universal-Indikatorpapier neutralisiert und im Meßkolben mit Wasser auf 100 ml aufgefüllt. Die durchgemischte Lösung wird bis zum Absetzen der ungelösten Bestandteile ca. 30 Min. stehengelassen.

Kolorimetrische Bestimmung:

10,0 ml der neutralisierten Lösung werden in einen Scheidetrichter pipettiert. Es werden 1,0 ml 10 n Schwefelsäure, 4,0 ml Wasser und 5,0 ml Ammoniummolybdat-Lösung II R 62 zugegeben und mit 20,0 ml Isobutanol kräftig ausgeschüttelt. Die Isobutanolphase wird zunächst zweimal mit je 10 ml 1 n Schwefelsäure gewaschen und danach 5 Min. mit 3000 U/Min. zentrifugiert. 10,0 ml der völlig klaren Isobutanollösung werden in einem

Scheidetrichter mit 15 ml verdünnter Zinnchlorid-Lösung R 63 geschüttelt. Eine entstandene Blaufärbung der Isobutanolphase wird nach kurzem Zentrifugieren gegen wassergesättigtes Iso-butanol gemessen (720 nm. Schichtdicke: 1,0 cm). Der Phosphorgehalt wird einer Eichkurve entnommen, die mit der Eichlösung R 64 aufgestellt wird.

Der Milcheiweißgehalt in der eingewogenen Probe errechnet sich dann wie folgt:

$$\frac{a \cdot 0,2}{0,65 \cdot b} = \% \text{ Milcheiweiß}$$

a: $\mu\text{g P}$

b: g Einwaage

Im Trennungsgang wird hiermit der Milcheiweißgehalt der unlöslichen Bestandteile errechnet. Die Berechnung auf den Milcheiweißgehalt des Lebensmittels erfolgt unter Berücksichtigung des Anteils der unlöslichen Bestandteile.

1.3.2.2 Analytik von Gelatine

1.3.2.2.1 Nachweis durch Fällung (5)

Ein Teil der Probe wird in 1 - 2 ml Wasser gelöst und mit einigen Tropfen gesättigter, wäßriger Pikrinsäurelösung R 65 versetzt. Bei Gegenwart von Gelatine und Peptonen entsteht ein gelber Niederschlag.

1.3.2.2.2 Nachweis durch Elektrophorese (101)

Auf einer Celluloseacetatfolie MN 20 (80 x 180 mm) der Firma MACHEREY, NAGEL & Co. werden im Abstand von 4,4 cm von einer Schmalseite und parallel hierzu 0,5 cm lange Bleistiftstriche als Startpositionen markiert. Danach wird die Folie auf die Oberfläche der Natriumcarbonat-Natriumhydrogencarbonat-Pufferlö-

sung R 66 gelegt. Nach vollständiger Benetzung der Folie taucht man diese mit einer Pinzette in die Pufferlösung ein. Die nasse Membranfolie, die keine weißen Flecken durch Luft einschüsse aufweisen darf, wird herausgenommen und leicht zwischen zwei Blättern von dickem Filterpapier gepreßt. Die Folie wird auf die Brücke einer Serva-Multiphorese-Kammer in der Weise gelegt, daß die markierten Startpunkte auf der Kathodenseite der Kammer liegen. Die Kammer enthält in jedem Reservoir 500 ml verdünnte Pufferlösung R 67. Auf die markierten Startpunkte werden nun 1 - 2 μ l der Probelösung sowie als Vergleich 1 - 2 μ l einer 1 proz. wäßrigen Gelatinelösung aufgetragen. Nach dem Eintrocknen der aufgetragenen Lösungen wird der Deckel der Kammer aufgelegt und der Strom eingeschaltet (Spannung 200 V). Nach 30 Min. wird der Strom abgeschaltet, die Folie herausgenommen und zur Fixierung der Eiweißstoffe 2 - 3 Min. in Trichloressigsäure-Lösung R 61 eingelegt. Anschließend erfolgt die Anfärbung der Eiweißstoffe durch Einlegen der Folie in gesättigte Amidoschwarz 10 B-Lösung R 68. Nach 10 Min. wird die Folie aus dieser Lösung herausgenommen und zur Entfärbung des nicht mit Eiweiß beladenen Membranfolienteils 2 - 3 Min. in Methanol-Eisessig-Mischung R 69 gebracht. Diese Flüssigkeit wird noch zweimal durch frische ersetzt. Bei Gegenwart von Gelatine und eventuell anderen Eiweißstoffen werden dunkelblau gefärbte Flecken erhalten.

1.3.2.2.3 Dünnschichtchromatographie nach Hydrolyse (50)

50 mg Gelatine bzw. des unlöslichen Rückstandes werden in einem Ampullenglas mit 1 ml 2 n Salzsäure versetzt. Nach dem Zerschmelzen des Glases wird während 2 Stunden bei 120°C im Trockenschrank hydrolysiert, danach das abgekühlte Glas geöffnet und die Lösung einmal auf eine Celluloseplatte P 9 aufgetragen. Entwickelt und besprüht wird wie in Abschnitt 1.2.4.4.2 beschrieben. Unter den Spaltprodukten der Gelatine sind die gelben Flecken von Prolin (hRf - Wert 44) und Hydroxyprolin (hRf - Wert 31) erkennbar.

Milchweiß, das bei der Aufarbeitung nach Abschnitt 3.4.2 abgetrennt wird und den Gelatinenachweis nicht mehr stört, gibt nach der Hydrolyse nur den gelben Fleck des Prolins, Hydroxyprolin ist nicht vorhanden.

1.3.3 Quellstoffe auf Kohlenhydratbasis

1.3.3.1 Papierchromatographie nach Hydrolyse

Etwa 50 mg der luftgetrockneten Probe werden in einem Reagenzglas in 0,5 - 2 ml 0,1 n Schwefelsäure in der Wärme unter Verrühren mit einem Glasstab gelöst. Die Lösung soll dickflüssig sein und darf keine Klümpchen enthalten. Das Reagenzglas wird mit einem kleinen, überhängenden Becherglas verschlossen und die Lösung in einem Siko-Spezialtopf 1 - 1,5 Stunden bei 140 - 143°C (~ 3 atü) erhitzt. Danach wird die Lösung 3 - 4 mal als 1,5 cm langer Strich auf Filterpapier FP 2 aufgetragen. Als Vergleich dienen Lösungen der in gleicher Weise hydrolysierten Quellstoffe. Bei den als Salz vorliegenden Quellstoffen (Natriumalginat, Natriumsalz der Carboxymethylcellulose) wird hierfür vor der Hydrolyse die Säure isoliert, um die notwendige Schwefelsäurekonzentration einzuhalten. Es wird 12 - 15 Stunden in dem Fließmittel F 28 absteigend chromatographiert. Das luftgetrocknete Chromatogramm wird mit p-Anisidinphthalat-Lösung R 70 besprüht und etwa 10 Min. im Trockenschrank bei 105°C erhitzt. Es werden dunkelbraune Flecken bei Gegenwart von Hexosen, rötliche bei Gegenwart von Pentosen und hellbraune bei Gegenwart von Uronsäuren erhalten. Das Ergebnis zeigt Tabelle 21.

Quellstoff	Hydrolyse= produkt	hRf - Wert	Tricarb= oxyme= thyl= glukose	Dicarb= oxy= methyl= glukose	Uron= säure	Mono= carb= oxy= methyl= glukose	Uron= säure	Galakto= se	Glukose	Mannose	Arabino= se	Xylose	Mono= methyl= glukose	Fucose	Rhamnose	Di= methyl= glukose	Tri= methyl= glukose
Agar-Agar					+		+	+				+			(+)		
Alginsäure																	
Carrageen								+				+					
Carboxymethyl= cellulose			+	+		+		+	+								
Dextrin									+								
Guar Gummi							+	+		+							
Gummi arabicum					+		+	+			+				+		
Johannisbrot= kernmehl								+		+							
Methylcellulose									+				+			+	+
Stärke								+	+								
Tragant					+			+	+		+	+		(+)			
Zitruspektin					+			(+)			(+)						

Tabelle 21: Papierchromatographie von Quellstoffen

Papier PP 2, Fließmittel F 28 (absteigend)

+ : deutlicher Fleck
(+) : schwacher Fleck

1.3.3.2 Elektrophorese der Quellstoffe (101)

Die Vorbehandlung der Celluloseacetatfolie erfolgt entsprechend Abschnitt 1.3.2.2.2. Als Tauchflüssigkeit wird Boratpuffer R 71 und als Kammerflüssigkeit verdünnter Boratpuffer R 72 verwendet. Aufgetragen werden 5 μ l einer 1 - 5 proz. Lösung bzw. Suspension des Quellstoffes in Boratpuffer R 71. Als Vergleiche werden 2 - 3 μ l 1 proz. Lösungen von löslicher Stärke und Traganth und 5 μ l einer 5 proz. Suspension von Guar- oder Johannisbrot= kernmehl aufgetragen. Nach Ablauf der Elektrophorese, 30 Min. bei 200 V, wird die Folie 5 Min. in Perjodsäure-Lösung R 73 und anschließend 10 Min. in SCHIFFs-Reagenz R 74 eingelegt, in dem sich die Quellstoff-Flecken lilarötlich färben. Zur Entfernung von überschüssigem SCHIFFs-Reagenz wird die Folie 1 Min. in Formaldehyd-Ammoniak-Mischung R 75 gebracht, wobei sich Lösung und Folie durch freigesetztes Fuchsin intensiv rot färben. Zur Entfärbung des nicht mit Quellstoffen beladenen Folienteils wird die Folie zunächst mit Äthanol von 96 Vol. % und anschließend einige Male mit Äthanol-Salzsäure-Mischung R 76 ausgewaschen. Der Farbton der Quellstoff-Flecken wechselt von Lilarot zu Rotviolett.

Das Ergebnis zeigt Abb. 1.

Zum Zwecke der Aufbewahrung oder Dokumentation wird die Folie nach der Anfärbung 2 - 3 Min. in Methanol gebracht. Dann wird sie auf eine Glasplatte gelegt und während 30 Sek. in frisch hergestellte Eisessig-Methanol-Mischung R 77 getaucht. Nach Herausnahme von Glasplatte mit Folie aus diesem Bad und Entfernung überschüssiger Flüssigkeit mit etwas Filterpapier wird 5 Min. bei 110°C im Trockenschrank getrocknet. Das transparent gewordene Pherogramm wird danach von der Glasplatte genommen und auf Papier geklebt.

-		+
	0	Guarmehl
	0	Johannisbrotkernmehl
	0	lösliche Stärke
	3	Traganth
	0	Polysaccharide aus Senf

Abb. 1: Elektrophorese von Polysacchariden

Trägermaterial : Celluloseacetatfolie MN 20
 Kammerfüllung : Boratpuffer R 72
 Anfärbung : Perjodsäure-SCHIFF-Reagenz R 74

1.3.4 Unlösliche anorganische Bestandteile

1.3.4.1 Nachweis von Calciumcarbonat

Die Gegenwart von Carbonat gibt sich durch die Entwicklung von Gasblasen beim Ansäuern der Analysenprobe zu erkennen. Calcium wird in schwach essigsaurer Lösung durch Fällungsreaktion mit Ammoniumoxalat-Lösung nachgewiesen.

1.3.4.2 Nachweis von Titandioxid (105)

50 - 100 mg der in Salzsäure unlöslichen Analysenprobe werden mit der sechsfachen Menge Kaliumhydrogensulfat im Platintiegel geschmolzen und mit einigen ml Wasser aufgenommen. Die Lösung wird mit einigen Tropfen verdünnter Schwefelsäure angesäuert und mit wenigen Tropfen 3 proz. Wasserstoffperoxidlösung versetzt. Bei Gegenwart von Titandioxid entsteht eine Orangefärbung.

1.3.4.3 Analytik des Talkums

1.3.4.3.1 Komplexometrische Magnesiumbestimmung nach Aufschluß

Die bei der Aufarbeitung nach Abschnitt 3.4.1.2 in 10 proz. Salzsäure unlöslichen, anorganischen Bestandteile werden gewogen und mit einem Glaspistill in einem Platintiegel mit der sechsfachen Menge Natriumcarbonat-Kaliumcarbonat-Mischung R 78 versieben. Die Mischung wird langsam bis zur Schmelze erhitzt und 15 - 20 Min. im ruhigen Schmelzfluß unter gelegentlichem Schwenken des Tiegels erhalten. Nach kurzem Erkalten wird der noch heiße Tiegel zur besseren Löslichkeit des Filterinhaltes in kaltem Wasser abgeschreckt. Der Filterinhalt wird mit Wasser bzw. Salzsäure in eine Abdampfschale überführt, vorsichtig mit 25 proz. Salzsäure angesäuert und eingedampft. Der Trockenrückstand wird noch 1 - 2 mal mit 25 ml 10 proz. Salzsäure und 3 mal mit 25 - 50 ml Wasser aufgenommen und jedesmal zur Trockene gebracht. Danach wird der Rückstand in der Wärme mit 10 ml 0,2 n Salzsäure digeriert, mit heißem Wasser in einen 50 ml Meßkolben überführt und der Kolbeninhalt nach dem Abkühlen zur Marke aufgefüllt. Nach dem Filtrieren werden je 10 ml des Filtrates zur komplexometrischen Calcium- und Magnesiumbestimmung angewendet, wenn mehr als 50 mg in Salzsäure unlösliche, anorganische Bestandteile vorliegen und je 20 ml, wenn ihre Menge weniger als 50 mg beträgt.

Calciumbestimmung (106):

20,0 ml (bzw. 10,0 ml und 10 ml Wasser) aufkochen, abkühlen lassen und nacheinander zusetzen:

10,0 ml 0,05 m Komplexon (III) Lösung R 79

0,5 ml Natronlauge R 80

ca. 100 mg Calcon-Indikator R 81.

Der Überschuß an Komplexon III wird mit 0,05 m Calciumchlorid-Lösung R 82 titriert. Die Indikatorfarbe schlägt von Blauviolett auf Weinrot um.

Magnesiumbestimmung (106):

20,0 ml (bzw. 10,0 ml und 10 ml Wasser) aufkochen, abkühlen lassen und nacheinander zusetzen:

10,0 ml 0,05 m Komplexon (III) Lösung R 79

5 ml Pufferlösung pH 10 R 83

ca. 50 mg Eriochromschwarz-T-Indikator R 84.

Der Überschuß an Komplexon III wird mit 0,05 m Magnesiumchlorid-Lösung R 85 titriert. Die Indikatorfarbe schlägt von Blau auf Weinrot um.

Der Magnesiumgehalt berechnet sich wie folgt:

ml verbrauchte Calciumchlorid-Lösung - ml verbrauchte
Magnesiumchlorid-Lösung $\cdot 1,212 = \text{mg Mg in 20 ml (10 ml)}$
der angewandten Lösung.

2. Auftrennung von Gemischen aus Lebensmittelinhalts- und Zusatz- stoffen

2.1. Trennversuche aufgrund von Löslichkeiten

2.1.1 Lösungsversuche

2.1.1.1 Lösungsversuche mit verschiedenen Lösungsmitteln

Die Selektivität verschiedener Lösungsmittel und Lösungsmittelgemische für Inhalts- und Zusatzstoffe wurde geprüft. Hierzu wurden 10 - 100 mg jeder Substanz, bei Farbstoffen auch weniger und bei Öl 1 g, mit 10 ml Lösungsmittel versetzt. Der Lösungsvorgang wurde gegebenenfalls durch Erwärmen beschleunigt.

Die Prüfung auf Löslichkeit in wässrig-organischen Lösungsmitteln erfolgte in der Weise, daß wasserlösliche Substanzen zuerst in Wasser gelöst wurden und nachfolgend mit hydrophilen organischen Lösungsmitteln versetzt wurden, während wasserunlösliche Substanzen zuerst in den organischen Lösungsmitteln gelöst und dann mit Wasser versetzt wurden. Bei Basen und amphoteren Elektrolyten wurde zur Lösung anstelle von Wasser 0,1 n Schwefelsäure verwendet.

Die geringe Löslichkeit der Emulgatoren in wässrig-organischen Lösungsmitteln wurde erkannt durch Trübung des Filtrats der bei 20°C hergestellten Suspension dieser Stoffe bei Abkühlung auf 4°C und anhand des beim Eindampfen des Filtrats erhaltenen Rückstandes. Dieser wurde auch nach Abschnitt 1.1.2.1 bzw. 1.2.6.5.1 auf Identität geprüft. Auf diese Weise wurde festgestellt, daß sich bei Zitronensäureglycerid nur der darin enthaltene Monoglyceridanteil in wässrig-organischen Lösungsmitteln löste. Die in absolutem Äthanol von 20 - 25°C schlecht löslichen Emulgatoren wurden außerdem mit Methanol und Acetonitril behandelt. Es ergab sich aber in allen Fällen ein noch schlechteres Lösungsvermögen als mit absolutem Äthanol.

Die Ergebnisse zeigt Tabelle 22.

Lösungsmittel

S u b s t a n z	Wasser	Äthanol	Aceton	Aceton- Wasser	Aceton- Äthanol- Wasser	Äther	Petrol- äther
	96 %	abs.		2 + 1, R 86	4 + 4 + 2		
Hexamethylen= tetramin	+	+	0	+	+	0	0
Sorbinsäure	(+)	+	+	+	+	+	+
Benzoessäure	0	+	+	+	+	+	+
Salicylsäure	0	+	+	+	+	+	+
p-Hydroxyben- zoessäurepropyl- ester	0	+	+	+	+	+	(+)
Butylhydroxy= toluol	0	+	+	+	+	+	+
Butylhydroxy= anisol	0	+	+	+	+	+	+
Propylgallat	0	+	+	+	+	+	0
Nordihydroguaja- retsäure	0	+	+	+	+	+	0
Diphenyl	0	+	+	+	+	+	+
Diphenylamin	0	+	+	+	+	+	+
o-Phenylphenol	0	+	+	+	+	+	+
Thioharnstoff	+	+	+	+	+	0	0
Salpetersäure	+	-	-	+	+	-	-
Natriumchlorid	+	-	-	+	+	-	-
Weinsäure	+	+	+	+	+	(+)	-
Zitronensäure	+	+	+	+	+	(+)	-
Essigsäure	+	+	+	+	+	+	+
Ameisensäure	+	+	+	+	+	+	+
Phosphorsäure (85 %)	+	+	-	+	+	-	-
Glukonsäure-delta- lacton	+	+	0	+	+	-	-
Cholin-Cl	+ *	-	-	+ *	+ *	-	-
Chinin-HCl	+ *	-	-	+ *	+ *	+ (Base)	-
Coffein	+ *	+	+	+	+	(+)	(+)
Glutaminsäure	+ *	0	0	+ *	+ *	-	-
Ammoniumchlorid	+ *	-	-	+ *	+ *	-	-
Bixin	0	+	+	+	+	0	0
Chlorophyll	0	+	-	+	-	-	+

Lösungsmittel

Substanz	Wasser	Äthanol	Aceton	Aceton- Wasser 2 + 1, R 86	Aceton- Äthanol- Wasser 4 + 4 + 2	Äther	Petrol- äther	
	96 %	abs.						
Chlorophyllin	+	(Salz)	-	-	+	(Säure)	+	(Säure)
β -Carotin	0		+	+	0	(+)	+	+
Orange GGN	+		+	-	+	+	0	0
Ceresrot G	0		+	+	+	+	+	+
β -Apo-8'- carotinal	0		+	+	+	+	+	+
Curcumin	0		+	+	+	+	+	0
β -Apo-8'- carotinsäure= äthylester	0		+	+	+	+	+	+
Canthaxanthin	0		+	+	(+)	+	+	0
Ascorbylpalmi- tat	0		+	-	+	+	+	(+)
Saccharose	+	(+)	-	0	+	+	0	0
Sorbit	+	+	-	0	+	+	-	-
Glycerin	+	+	-	0	+	+	0	0
Äthylenglykol	+	+	-	+	+	+	0	0
2,3-Butandiol	+	+	-	+	+	+	+	(+)
1,2-Propylen= glykol	+	+	-	+	+	+	+	(+)
1,3-Butylen= glykol	+	+	-	+	+	+	+	(+)
Diäthylenglykol	+	+	-	+	+	+	(+)	(+)
Dulcin	0-(+)	+	-	+	+	+	0	0
Saccharin	(+)	+	-	+	+	+	+	0
Cyclohexylsulf= aminsäure	+	+	-	+	+	+	+	-
Vanillin	+	+	-	+	+	+	+	+
Äthylvanillin	+	+	-	+	+	+	+	+
Tween 80	+	+	-	+	+	+	(+)	0
Ölsäurediäthyl= aminoäthylester	+	+	-	+	+	+	+	+
Span 80	0	+	-	+	(+)	(+)	+	+
Saccharosefett= säureester(Diester)	(+)	+	-	(+)	(+)	-	(+)	(+)
Sorbitolester	0	-	^{+33°C} (+) _{20°C}	(+)	-	-	+	(+)
Polyglycerin- ester von Fettsäuren	0	+	+	0	(+)	-	-	+

Substanz	Wasser	Äthanol 96 %	Aceton abs.	Aceton- Wasser 2 + 1, R 86	Aceton- Äthanol- Wasser 4 + 4 + 2	Äther	Petrol- äther
Propylenglykol= monostearat	0	+	+	(+)	-	+	+
Lecithin	0	+	-	(+)	+	+	+
Weinsäureglyce- rid, acetyl.	0	+	+	0	-	+	+
Zitronensäure= glycerid	0	(+)	$\Rightarrow 60^{\circ}\text{C}$ (+) 20°C	0	-	+	+
Milchsäure= glycerid	0	-	$\Rightarrow 30^{\circ}\text{C}$ (+) 20°C	+	-	+	+
Olivendöl	0	0	$\Rightarrow 60^{\circ}\text{C}$ (+) 20°C	0	(+)	+	+
Paraffin, flüssig	0	-	+	0	-	+	+

Tabelle 22: Lösungsversuche

* wäßrige Phase: 0,1 n Schwefelsäure

+ : gut löslich

0 : nicht löslich

(+) : wenig löslich

- : nicht geprüft

> : über

2.1.1.2 Lösungsversuche mit Alginsäure und Carboxymethylcellulose

1 proz. wäßrige Lösungen von Natriumalginat und Carboxymethylcellulose (Natriumsalz) wurden mit 1 n Schwefelsäure angesäuert und auf eine Konzentration von 80 Vol. % Äthanol gebracht. Die ausgefällten und mit Äthanol von 80 Vol. % gewaschenen Quellstoffe wurden nach Trocknung an der Luft mit Wasser aufgeköcht und die erhaltene Lösung bzw. Suspension zentrifugiert. Durch Zugabe von Äthanol zu der überstehenden wäßrigen Lösung wurde auf darin enthaltene Quellstoffsubstanz geprüft = Löslichkeit in Wasser bei Normaldruck. Die ungelöst gebliebenen Anteile wurden in Wasser suspendiert und eine Stunde bei 140°C , etwa 3 atü, autoklaviert. Bei Alginsäure lagen danach noch deutliche Mengen ungelöst geblieben.

bener Substanz vor, während Carboxymethylcellulose fast ganz in Lösung gegangen war. Es wurde zentrifugiert und die in Lösung gegangene Quellstoffsubstanz erneut mit Äthanol ausgefällt = Löslichkeit in Wasser bei Überdruck. Diese Fällung wurde auch durch Hydrolyse und Papierchromatographie nach Abschnitt 1.3.3.1 geprüft. Die Ergebnisse zeigt Tabelle 23.

Quellstoff	Löslichkeit in Wasser	
	Normaldruck (100°C)	Überdruck (140°C, etwa 3 atü)
Alginsäure	(+)	+ *)
Carboxymethylcellulose	0	+ *)

Tabelle 23: Wasserlöslichkeit von Quellstoffsäuren in Abhängigkeit vom Druck

- + : löslich
- (+) : wenig löslich
- 0 : unlöslich
- *) : Hydrolyseprodukte entsprechend Tabelle 21

2.1.1.3 Mischbarkeit von Fetten mit absolutem Äthanol

10 g Fett wurden mit 20 ml absolutem Äthanol bis zur klaren Mischung im Wasserbad erhitzt. Die Mischung wurde anschließend auf 20°C abgekühlt und hierbei die Entmischungstemperatur festgestellt. In 10 ml der zentrifugierten, klaren Äthanolphase wurde der Fettgehalt bestimmt. Die Ergebnisse zeigt Tabelle 24.

Fettart	Entmischungstemperatur	Fettrückstand (g) in 10 ml Äthanol von 20°C
Kokosfett	29°C	1,40
Butterfett	49°C	0,76
Sonnenblumenöl	68°C	0,33
Schweineschmalz	75°C	0,28

Tabelle 24: Mischbarkeit von Fetten mit absolutem Alkohol in Abhängigkeit von Temperatur und Fettart

2.1.2 Verteilungsversuche

2.1.2.1 Verteilungsversuche mit Lösungsmitteln

2.1.2.1.1 Verteilungsversuche mit reinen Lösungsmitteln

Folgende Lösungsmittelmischungen wurden mit 5 ml Petroläther durchmischt:

- a) 20 ml Aceton + 10 ml Wasser (66,7 Vol. %)
 20 ml Aceton + 6,5 ml Wasser (75 Vol. %)
 20 ml Aceton + 5 ml Wasser (80 Vol. %)
- b) 20 ml Äthanol (abs.) + 10 ml Wasser (66,7 Vol. %)
 20 ml Äthanol (abs.) + 6,5 ml Wasser (75 Vol. %)
 20 ml Äthanol (abs.) + 5 ml Wasser (80 Vol. %)
- c) 5 ml Äthanol (abs.) + 15 ml Aceton + 10 ml Wasser (66,7 Vol. %)
 5 ml Äthanol (abs.) + 15 ml Aceton + 6,5 ml Wasser (75 Vol. %)
 5 ml Äthanol (abs.) + 15 ml Aceton + 5,0 ml Wasser (80 Vol. %)
- d) 10 ml Äthanol (abs.) + 10 ml Aceton + 10 ml Wasser (66,7 Vol. %)
 10 ml Äthanol (abs.) + 10 ml Aceton + 6,5 ml Wasser (75 Vol. %)
 10 ml Äthanol (abs.) + 10 ml Aceton + 5,0 ml Wasser (80 Vol. %)

Das danach festgestellte Petroläthervolumen zeigt Tabelle 25.

Alkohol- bzw. Acetonkonzentration in wäßriger Phase	Petroläthervolumen (ml)
a) 66,7 Vol. %	6,0
75 Vol. %	7,0
80 Vol. %	9,5
b) 66,7 Vol. %	3,0
75 Vol. %	3,0
80 Vol. %	3,0
c) 66,7 Vol. %	4,5
75 Vol. %	4,5
80 Vol. %	4,5
d) 66,7 Vol. %	3,0
75 Vol. %	3,0
80 Vol. %	3,0

Tabelle 25: Verteilungsversuche mit Lösungsmitteln

Wäßrige Phase: hydrophiles, organisches Lösungsmittel und Wasser

2.1.2.1.2 Mischbarkeit und Verteilung von zuckerhaltigen Lösungsmitteln

Wäßrige Zuckerlösung: 50 g Saccharose wurden in 50 g Wasser gelöst. 10 g der wäßrigen Zuckerlösung wurden bei 20°C mit Aceton, Äthanol und Aceton-Äthanol-Mischung 1 + 1 und 1 + 2 auf einen Gehalt von 66,7 - 80 Vol. % organische Lösungsmittel, bezogen auf den Wasseranteil der Zuckerlösung, eingestellt. Außerdem wurden 8 g und 6 g der Zuckerlösung mit 2 g und 4 g Wasser vermischt und die so erhaltenen 40 und 30 proz. Zuckerlösungen mit Äthanol-Aceton 2 + 1 auf 80 Vol. % eingestellt. Die Mischungen wurden zusätzlich mit 5 ml Petroläther durchmischt. Die Ergebnisse zeigt Tabelle 26.

Lösungsmittel= konzentration	Ohne Petroläther			Mit Petroläther				Petroläther= volumen ml
	Phasenzahl bei			Phasenzahl bei				
	Zuckergehalt im			Zuckergehalt im				
	Wasser:			Wasser:				
	50 %	40 %	30 %	50 %	40 %	30 %		
Aceton 66,7 Vol. %	2			2			10	
Aceton 80 Vol. %	2			2			22	
Äthanol 80 Vol. %	1			3			2	
Äthanol 77 Vol. %	1			2			2	
Äthanol-Aceton 1 + 1, 80 Vol. % 1*)				3			2	
Äthanol-Aceton 2 + 1, 80 Vol. % 1	1	1	1	3	3	2*)	2	
78 Vol. % 1				3			2	

Tabelle 26: Mischbarkeit und Verteilung von zuckerhaltigen Lösungsmitteln

Wäßrige Phase: hydrophiles, organisches Lösungsmittel und wäßrige Zuckerlösung

*) wäßrige Phase
schwach trübe

2.1.2.2 Verteilungsversuche mit Stoffen, die sowohl in Petroläther als auch in wäßrigem Aceton löslich sind

5 - 100 mg Substanz wurden in 15 ml Aceton R 86 gelöst, die Lösung mit 5 ml Petroläther (40 - 60°C) ausgeschüttelt und die Verteilung der Stoffe nach den in beiden Phasen nach Entfernung der Lösungsmittel erhaltenen Rückstandsmengen, bei Farbstoffen nach der Farbtintensität beider Phasen, beurteilt. Die Ergebnisse zeigt Tabelle 27.

S u b s t a n z	wäßrige Aceton-Phase	Petroläther=phase
Benzoessäure	+	(+)
p-Hydroxybenzoessäure= methylester	+	(+)
Sorbinsäure	+	(+)
Butylhydroxytoluol	0	+
Butylhydroxyanisol	+	(+)
Propylgallat	+	(+)
Nordihydroguajaretsäure	+	(+)
Diphenyl	(+)	+
Diphenylamin	+	(+)
o-Phenylphenol	+	+
Äthylvanillin	+	(+)
Bixin	(+)	+
Kupferchlorophyllin	+	(+)
Ceresrot G	+	+
Canthaxanthin	(+)	+

Tabelle 27: Verteilung von Stoffen

- + : deutlicher Rückstand bzw. deutliche Färbung
- (+): geringer Rückstand bzw. geringe Färbung
- 0 : kein Rückstand bzw. keine Färbung

2.1.2.3 Verteilungsversuche mit Ascorbylpalmitat

Je 25 mg Ascorbylpalmitat wurden mit 25 g Schweineschmalz vermischt. Die Mischung wurde in 50 ml Petroläther in der Wärme gelöst und mit 100 ml Äthanol, Methanol oder Äthanol-Aceton 4 + 1 versetzt. Die Lösungen wurden mit soviel Wasser versetzt, wie einer Konzentration von 5 und 33,3 Vol. % Wasser in der wäßrigen Phase entsprach. Der Nachweis des Ascorbylpalmitats in der wäßrigen Phase erfolgte nach Abschnitt 1.2.1.2 nach Ausschüttlung mit Äther. Die Ergebnisse zeigt Tabelle 28.

Wäßrige Phase (Vol.)	Nachweis von Ascorbylpalmitat in der wäßrigen Phase
Methanol-Wasser 95 + 5	+
Äthanol-Wasser 95 + 5	+
Äthanol-Wasser 2 + 1	+
Äthanol-Aceton- Wasser 8 + 2 + 5	+

Tabelle 28: Verteilung von Ascorbylpalmitat

+ : deutlich nachweisbar

2.1.2.4 Verteilungsversuche mit Emulgatoren in wasserhaltigen Lösungsmitteln

a) ohne Öl:

100 mg Emulgator wurden in 125 ml Petroläther-Aceton-Äthanol R 87 gelöst und mit 50 ml Wasser versetzt. Nach Durchmischung und Schichtentrennung wurde die wäßrige Phase durch ein doppeltes Faltenfilter filtriert. Die Verteilung der Emulgatoren in beiden Phasen wurde nach der Entfernung der Lösungsmittel erhaltenen Rückstandsmengen beurteilt.

b) mit Öl:

Die Versuchsausführung entsprach der vorstehenden, es wurden jedoch bei Lösung des Emulgators 25 g Olivenöl zugesetzt. Abweichend von Versuch a wurde die Petrolätherphase einmal mit 50 ml Aceton R 86 gewaschen. Der in der wäßrigen Phase enthaltene Emulgatoranteil wurde durch Auswägen ermittelt, während der Nachweis in der Petrolätherphase in dem mit absolutem Alkohol erhaltenen Extrakt des Öles wie in Abschnitt 2.1.2.5 2f beschrieben erfolgte. Die Verteilung von Lecithin ergab sich aus dem in der wäßrigen Phase und im Äthanolextrakt des Öles ermittelten Phosphatgehalt. Die Ergebnisse von a und b zeigt Tabelle 29.

Emulgator	Rückstand in wäßriger Phase		Nachweis bzw. Rückstand in Petrolätherphase	
	mg	%	mg	%
Lecithin a	71	71	(+)	
b	6,85 (P_2O_5)	88	0,85 (P_2O_5)	10,9
Monoglycerid a	49	49	+	
b	62	62	+	
Tween 20 a	+		0	
b	89	89	-	
Span 80 a	34	34	+	
b	76	76	(+)	
Weinsäureglycerid a	(+)		+	
b	9,7	9,7	+	
Zitronensäureglycerid				
a	5*	5	+	
b	14*	14	+	

Tabelle 29: Verteilung von Emulgatoren

- * : nur Monoglyceridanteil
- + : deutlicher Rückstand bzw. Nachweis
- (+) : geringer Rückstand bzw. Nachweis
- 0 : kein Rückstand

Wäßrige Phase: 67 Vol. % Aceton-Alkohol 1 + 2
bzw. 67 Vol. % Aceton

2.1.2.5 Verteilungsversuche mit stark lipophilen Stoffen

2.1.2.5.1 Verteilungsversuch mit Butylhydroxytoluol

20 g Öl und 50 mg BHT wurden mit 40 ml absolutem Äthanol bis zur klaren Lösung erhitzt. Nach dem Erkalten auf 4°C war BHT in der Äthanolphase nach Abschnitt 1.1.4.1 nachweisbar.

2.1.2.5.2 Verteilungsversuche mit Emulgatoren in wasserfreien Lösungsmitteln

- a) 200 mg Zitronensäureglycerid und 20 g Öl wurden entsprechend Abschnitt 2.1.2.4b behandelt. Die Fettphase wurde nach Entfernung der Lösungsmittel in 40 ml absolutem Äthanol gelöst, die nach Abkühlung auf 4°C abgetrennte Äthanolphase auf 10 ml eingengt, erneut bis zur klaren Lösung erhitzt und auf 4°C abgekühlt. In der durch Quarzwatte filtrierten Äthanolphase konnte Zitronensäureglycerid nicht festgestellt werden.
- b) 100 mg Zitronensäureglycerid und 20 g Öl wurden entsprechend Abschnitt 2.1.2.4b behandelt. Die Fettphase wurde nach Entfernung der Lösungsmittel in 40 ml Äthanol heiß gelöst und die Lösung in einen Scheidetrichter gegeben, der sich in einem auf 60°C erwärmten Trockenschrank befand. Nach klarer Schichtentrennung wurde die Fettphase noch in der Wärme abgelassen. Beim Erkalten der Äthanolphase auf 20°C sich weiter abscheiden= des Öl wurde abgetrennt. Die Öltrennung wurde nach Einengung der Äthanolphase auf 10 ml wiederholt. Danach wurden Öl- und Äthanolphase durch Quarzwatte filtriert und sowohl die abfiltrierten Bestandteile wie auch die Äthanolphase auf Zitronensäureglycerid nach Abschnitt 1.1.2.1 geprüft. In beiden Fällen war Zitronensäureglycerid deutlich nachweisbar.
- c) 1 g acetyliertes Weinsäureglycerid und 20 g Öl wurden in 40 ml absolutem Äthanol gelöst, die Lösung wurde auf 4°C abgekühlt. Weinsäureglycerid war in der Äthanolphase nach Abschnitt 1.1.2 nachweisbar.

- d) 500 mg Weinsäureglycerid und 20 g Öl wurden in 40 ml absolutem Äthanol heiß gelöst, die Abtrennung des Öles wurde bei 60°C bzw. 20°C vorgenommen und nach Einengung der Äthanolphase auf 10 ml wiederholt. In der Äthanolphase war Weinsäureglycerid deutlicher nachweisbar als nach Versuch c.
- e) 100 mg Weinsäureglycerid und 25 g Öl wurden wie in Versuch b behandelt, mit der Abweichung, daß hier eine Filtration über Quarzwatte unterblieb. Weinsäureglycerid war in der Äthanolphase nach Abschnitt 1.1.2 etwas schwächer als nach Versuch d nachweisbar.
- f) Die bei dem Verteilungsversuch in Abschnitt 2.1.2.4b im Öl verbliebenen Emulgatoranteile wurden mit absolutem Äthanol extrahiert. Hierzu wurde das von Lösungsmitteln befreite Öl in 50 ml absolutem Äthanol gelöst und die Schichtentrennung erst bei 60°C und anschließend bei 20°C durchgeführt. Die Abtrennung des Öles wurde mit der auf 10 ml eingengten Äthanolphase wiederholt. In dem Äthanolextrakt war Lecithin durch Phosphatbestimmung nachweisbar. Die übrigen Emulgatoren konnten nach Fraktionierung des Extraktes an der Kieselgelsäule nach Abschnitt 2.5.3b in der Methanolfraction nach Abschnitt 1.2.6.5 bzw. 1.1.2 nachgewiesen werden (Tabelle 29).

2.1.2.5.3 Verteilungsversuche mit Farbstoffen

Lösungen von 25 g Öl in 125 ml Petroläther-Äthanol-Aceton R 87 wurden mit einer zur deutlichen Färbung ausreichenden Menge Farbstoff versetzt und 50 ml Wasser zugegeben. Die Fettphase wurde nach Abtrennung der wäßrigen Schicht einmal mit 50 ml Aceton R 86 gewaschen, anschließend von den Lösungsmitteln befreit und in 50 ml absolutem Äthanol gelöst. Die in der wäßrigen Lösung und nach Schichtentrennung in Äthanol- und Fettphase erhaltenen Färbungen zeigt Tabelle 30.

Farbstoff	Petrolätherphase		
	wäßrige Phase	Äthanolphase	Fettphase
β -Apo-8'-carotin=säureäthylester	0	(+)	+
β -Apo-8'-carotinal	0	(+)	+
Canthaxanthin	0	(+)	+
Ceresorange GN	+	+	+
Bixin	+	(+)	+

Tabelle 30: Verteilung von Farbstoffen

- + : deutliche Färbung
 (+) : schwache Färbung
 0 : keine Färbung

2.1.2.6 Verteilungsversuche mit Stoffgemischen und Lebensmitteln

Mischungen verschiedener Stoffe mit Lebensmitteln wurden in 50 ml Petroläther-Aceton R 88 gelöst bzw. suspendiert, wasserfreie Mischungen mit 20 ml Wasser versetzt und der Nachweis der einzelnen Stoffe in wäßriger Phase und Petrolätherphase nach den in Abschnitt 1 beschriebenen Methoden durchgeführt. Die Ergebnisse zeigt Tabelle 31.

Zusammensetzung der Mischungen	Stoffe in der wäßrigen Acetonphase	Stoffe in der Petrolätherphase
Versuch 1:		
20 g Öl	Propylgallat	Öl
2 mg Propylgallat	Äthylgallat	Stearyl-gallat
2 mg Äthylgallat	NDGA	(schwach nachweis=
2 mg Stearyl-gallat	Stearyl-gallat (schwach nachweisbar)	bar) +)
2 mg NDGA		
Versuch 2:		
20 g Öl	NDGA	Öl
50 mg Sorbinsäure	Sorbinsäure	BHT ⁺)
2 mg NDGA		
5 mg BHT		
Versuch 3:		
40 g Rollmops "mit Konservierungsstoff Sorbinsäure, p-Hydroxybenzoesäureester" ++)	Sorbinsäure p-Hydroxybenzoesäure=propylester	Öl

Tabelle 31: Verteilung von Stoffgemischen mit Lebensmitteln

- +) : Nachweis im Äthanol-extrakt des Öles
 ++): Probe aus dem Handel

2.2 Trennversuche durch Fällung

2.2.1 Fällung von Quellstoffen

1 proz. Quellstofflösungen wurden mit 1 n Schwefelsäure angesäuert und bis zur Konzentration von 66,7, 75, 77, 78 und 80 Vol. % mit Aceton, Äthanol und Aceton-Äthanol 1 + 2 versetzt. Die Lösungen wurden 12 Stunden bei 4°C aufbewahrt, filtriert und durch Zugabe von Aceton zu dem Filtrat auf noch in Lösung befindliche Quellstoffsubstanz geprüft. Die Ergebnisse zeigt Tabelle 32.

Quellstoff	Lösungsmittelkonzentration						
	Aceton Vol. %			Äthanol Vol. %		Aceton-Äthanol 1 + 2	Vol. %
	66,7	75	80	77	80	78	
Stärke	+	+			+		+
Zitruspektin	+						
Johannisbrotkern= mehl	+						
Agar-Agar	+				+		+
Guarmehl	+						
Alginsäure	+						
Gummi arabicum	+						
Carrageen	(+)	+		+		+	
Carboxymethyl= cellulose	(+)	+		+		+	
Traganth	(+)	+		+	+	+	
Viscarin	0	(+)	+	+	+	+	+
Gelatine	(+)		+	+	+	+	+
Milcheiweiß, aufgeschlossen	(+)	+		+	+	+	+
Dextrin	(+)	+		(+)*	(+)	(+)*	(+)*
Methylcellulose	(+)	+	+	(+)**	(+)	(+)**	(+)**

Tabelle 32: Fällung von Quellstoffen aus schwefelsaurer Lösung in
Abhängigkeit zur Konzentration organischer Lösungsmittel

- + : quantitativ ausgefällt
 (+) : nicht quantitativ ausgefällt
 0 : keine deutliche Fällung
 *) : geringe Nachfällung mit Aceton, bei allen drei
 Filtraten etwa gleich
 **) : deutliche Nachfällung mit Aceton, am stärksten im
 Filtrat mit 77 Vol. % Äthanol

2.3 Trennversuche durch Lösung und Fällung bei Lebensmitteln

2.3.1 Trennversuche bei verschiedenartigen Lebensmitteln

20 g zerkleinerte Lebensmittel wurden nach Ansäuern mit Schwefelsäure auf einen Gehalt von mindestens 10 g Wasser eingestellt und mit Äthanol und Äthanol-Aceton bis zur vierfachen Menge des Wassergehaltes versetzt, bei fetthaltigen Lebensmitteln wurden außerdem 10 ml Petroläther (Siedepunkt bis etwa 40°C) zugegeben. Die Mischungen wurden durchgeschüttelt, 12 Stunden bei 4°C aufbewahrt und anschließend zentrifugiert. Die wässrige Phase wurde mit Aceton auf noch gelöste Polysaccharid- oder Eiweißsubstanz geprüft und anschließend mit Wasser auf 67 Vol. % Äthanol bzw. Aceton-Äthanol eingestellt. Bei fetthaltigen Lebensmitteln wurde das Fett im Scheidetrichter abgetrennt und die wässrige Phase klar filtriert. In einigen Fällen wurden die erhaltenen Phasen auf einzelne Stoffe geprüft. Die Ergebnisse zeigt Tabelle 33.

Lebensmittel	Fällungs- bzw. Extraktionsmittel	Nachfällung mit Aceton	Fettphase	Wässrige Phase nachgewiesene Stoffe	Feste Phase nachgewiesene Stoffe
Grenadine-Sirup (65 % Extrakt)	Äthanol-Aceton 2 + 1 80 Vol. %	0	0	Teerfarbstoffe Vanillin	0
Mayonnaise mit Viscarin-zusatz (50 % Fett)	Äthanol-Aceton 2 + 1 80 Vol. % und Petroläther	0	+	Benzoesäure Saccharin	+ Viscarin
Rohwurst	Äthanol-Aceton 2 + 1 80 Vol. % und Petroläther	0	+	0	+ 0
Kirschkonserve (10 % Extrakt)	Äthanol-Aceton 2 + 1 80 Vol. %	0	0	0	+ Pektin
Nugat	Äthanol 77 Vol. % und Petroläther	0	+	Vanillin	+ Kakao- und Haselnußzellgewebe

Tabelle 33: Lösung und Fällung von Lebensmittelinhalts- und Zusatzstoffen

+ : vorhanden

0 : nicht vorhanden bzw. Zusatzstoffe nicht nachweisbar

2.3.2 Trennversuche bei Reis

11 Reisproben des Handels wurden wie in Abschnitt 3.5.2 beschrieben aufgetrennt. Die Prüfung auf Paraffin verlief in allen Fällen negativ. Die Ergebnisse der Untersuchungen auf Stärkesirup und Talkumbehandlung sind in Tabelle 34 aufgeführt.

Bezeichnung der Reisprou- be	Menge der anorgan. salzsäureunlös- Bestandteile mg/ 100 g Reis	Magnesium mg/100 g Reis	Magnesiumgehalt der unlös- Bestandteile %	Extrakt g/ 100 g	Stärke- qual. g/100 g
Naturreis	7,8	0,18	2,3	0,6	0
Milohreis	4,0	0,06	1,5	0,1	0
Milohreis	5,0	0	0	0,2	0
Milohreis	3,2	0,12	3,7	0,1	0
Patnareis	298,2	55,3	18,5	0,7	+
Patnareis	332,8	62,0	18,6	0,4	+
Patnareis	446,0	84,8	19,0	0,4	+
Patnareis	427,2	79,4	18,6	0,4	+
Patnareis	370,2	66,6	18,0	0,5	+
Patnareis	380,0	74,8	19,7	0,5	+
Patnareis	95,2	15,9	16,6	0,5	+
Talkum-Vergleich	156,9 mg Einwaage	28,9 mg Mg	18,4 % Mg (theor. 19,25 %)		

Tabelle 34: Trennversuche bei Reis

Nachweis einer Talkum-Stärke-Verfälschung

0: nicht nachweisbar

+: nachweisbar

2.4 Trennversuche durch Ionenaustausch an der Säule

Methodik:

Für alle Versuche wurden mit Teflonhähnen ausgestattete Glassäulen von 30 cm Länge und 1,0 cm Innendurchmesser verwendet. Das Füllen der Säulen erfolgte wie in Abschnitt 3.2.2 beschrieben. Im allgemeinen wurden Austauschersäulen von 10 cm Länge verwendet und nur in einzelnen Fällen auch solche von 22 cm Länge. Der Ionenaustausch wurde bei Zimmertemperatur ausgeführt.

2.4.1 Anionenaustauscherversuche

2.4.1.1 Vorversuch mit stark basischem Anionenaustauscher, OH-Form

Analysenlösung: 5 ml 0,1 m wäßrige Weinsäurelösung + 10 ml Aceton

Austauscher : Anionenaustauscher III, stark basisch (Merck).
Der Austauscher wurde bis zum Verschwinden der Chloridreaktion mit 1 n Natronlauge behandelt, anschließend mit Wasser bis zur neutralen Reaktion gewaschen und in Wasser aufbewahrt.

Elutionsdaten : Säulenmaße: 1,0 x 22 cm, Durchflußgeschwindigkeit:
20 Tropfen/Min., Fraktionierung: je 100 ml

Folgende Fraktionen wurden erhalten:

Fraktion 1: ausgetauschte Analysenlösung und zum Nachwaschen verwendetes Aceton R 86

Fraktion 2 zum Nachwaschen verwendete 0,1 m 67 Vol. proz. alkohol-
und 3: lische Natriumchloridlösung

Fraktion 4 zur Elution verwendete 0,5 m wäßrige Natriumsulfatlösung
und 5:

Die kolorimetrische Bestimmung der Weinsäure erfolgte nach (123).

Ergebnis: In Fraktion 4 wurden 77 mg Weinsäure gefunden (theoretischer Wert: 75 mg).

2.4.1.2 Vorversuch mit schwach basischem Anionenaustauscher

Analysenlösung: 120,8 mg Chlorid und 75 mg Weinsäure in 20 ml
Aceton R 86

Austauscher : Anionenaustauscher II, schwach basisch (Merck).
Das Austauscherharz wurde mehrfach mit 1 proz.
Natronlauge gewaschen und anschließend mit Wasser
bis zur neutralen Reaktion behandelt.

Elutionsdaten : Säulenmaße: 1,0 x 22 cm, Durchflußgeschwindigkeit:
20 Tropfen/Min., Fraktionierung: 100 ml

Ergebnis:

In Fraktion 1, ausgetauschte Analysenlösung und zum Nachwaschen
verwendetes Aceton R 86, wurden 66 mg Weinsäure und 94 mg Chlorid
gefunden.

2.4.1.3 Versuche mit stark basischem Anionenaustauscher, Hydroxid- Form

Analysenlösungen: 5 - 200 mg Substanz wurden in 20 ml Aceton R 86
gelöst.

Elutionsdaten : Säulenmaße: 1,0 x 10 cm, Durchflußgeschwindig-
keit: 20 Tropfen/Min., Fraktionierung: je 50 ml,
Waschflüssigkeit: Aceton R 86

Folgende Fraktionen wurden erhalten:

Fraktion 1 : ausgetauschte Analysenlösung und Waschflüssigkeit
Fraktion 2 und 3: 0,5 m acetonische Natriumchloridlösung R 89
Fraktion 4 : 0,5 m wäßrige Natriumsulfatlösung
Fraktion 5 : Schwefelsaures Aceton R 90

Es wurde zum Teil Fraktion 1, 2, 4, 5 und zum Teil Fraktion 1, 2,
3, 4 erhalten. Die Fraktionen wurden auf die eingesetzten Stoffe
nach Abschnitt 1 geprüft.

Ergebnis:

Substanz	Angewandte Menge, mg	F r a k t i o n - N r.				
		1	2	3	4	5
Natriumchlorid	200	0	-	-	-	-
Natriumnitrit	100	0	+		+	0
Natriumnitrat	100	0	+		+	0
Natriumpyrophosphat	100	0	0		+	
Weinsäure	37,5	0	+	(+)	0	
Formaldehyd	10	0	0		(+)	0
Orange GGN	5	0	(+)		0	(+)
Benzoesäure	10	0	+	0	0	
Butylhydroxyanisol	10	+	+		0	+
Propylgallat	10	0	(+)		0	+xx)
Nordihydroguajaretsäure	10	0	(+)		0	+xx)
p-Hydroxybenzoesäuremethylester	50	0	+		0	-
Äthylvanillin	10	(+)	(+) ^{x)}		(+) ^{x)}	-
Dulcin	10	+	0	0	0	
Saccharin	10	0	+	+	0	
Natriumcycloamat	10	0	+	(+)	0	

Tabelle 35: Trennversuche mit Anionenaustauscher III, stark basisch (Merck), OH-Form

- 0 : kein Rückstand bzw. nicht nachweisbar
 (+) : kaum Rückstand bzw. kaum nachweisbar
 + : deutlicher Rückstand bzw. deutlich nachweisbar
 x) : deutliche Verfärbungen
 xx) : in weiteren 100 ml Schwefelsaurem Aceton R 90: (+)
 - : nicht geprüft

2.4.1.4 Versuche mit stark basischem Anionenaustauscher Carbonat-Form

Analysenlösungen: 2 - 10 mg Substanz wurden in 20 ml Aceton R 86 gelöst.

Austauscher : Durch die wäßrige Suspension des nach Abschnitt 2.4.1.1 vorbehandelten Anionenaustauschers III, stark basisch, OH-Form, wurde zwei Stunden lang CO₂-Gas geleitet.

Elutionsdaten : Säulenmaße: 1,0 x 10 cm, Durchflußgeschwindigkeit: 20 Tropfen/Min., Waschflüssigkeit: Aceton R 86

Elutionslösung : Schwefelsaures Aceton R 90

Es wurden 2 Fraktionen erhalten:

Fraktion 1: ausgetauschte Analysenlösung und Waschflüssigkeit

Fraktion 2: Elutionslösung . Ergebnis:

S u b s t a n z	Angewandte Menge mg	F r a k t i o n - N r.	
		1	2
Butylhydroxyanisol	10	+	0
Propylgallat	10	0	(+)
Nordihydroguajaretsäure	10	0	(+)
Dulcin	10	+	0
Saccharin	10	0	+
Cyclamat	10	0	+
Vanillin	10	(+)	+
Äthylvanillin	10	(+)	+(*)
Curcumin	2	(+)	+
Riboflavin	2	+	0
Benzoessäure	10	0	+
o-Phenylphenol	2	+	(+)
Diphenyl	15	+	0
Thioharnstoff	13	+	0
o-Phosphat	10	0	+

Tabelle 36: Trennversuche mit Anionenaustauscher III, stark basisch (Merck), Carbonatform

0 : kein Rückstand bzw. nicht nachweisbar
 (+): kaum Rückstand bzw. kaum nachweisbar
 + : deutlicher Rückstand bzw. deutlich nachweisbar
 *) : keine Verfärbungen

2.4.2 Versuche mit stark saurem Kationenaustauscher, H-Form

Analysenlösungen: 2 - 50 mg Substanz wurden in 10 ml Aceton R 86 gelöst.

Austauscher : Anionenaustauscher I, stark sauer (Merck). Der Austauscher wurde mehrfach mit 2 n Salzsäure behandelt, anschließend mit Wasser bis zur neutralen Reaktion gewaschen und in Wasser aufbewahrt.

Elutionsdaten : Säulenmaße: 1,0 x 10 cm, Durchflußgeschwindigkeit: 20 - 30 Tropfen/Min., Fraktionierung: erste Fraktion 100 ml, dann je 50 ml, Waschflüssigkeit: Aceton R 86

Es wurden folgende Fraktionen erhalten:

Fraktion 1: ausgetauschte Analysenlösung und Waschflüssigkeit

Fraktion 2: 0,5 m acetonische Natriumchloridlösung R 89

Fraktion 3: 1 n Salzsäure

Fraktion 4: 0,5 n Natronlauge

Fraktion 5: Waschflüssigkeit

Fraktion 6: Schwefelsaures Aceton R 90

Es wurde zum Teil nur Fraktion 1 und 2 erhalten, zum Teil Fraktion 1 bis 3 und schließlich Fraktion 1 und 4 bis 6. Die Fraktionen wurden nach Abschnitt 1 auf die eingesetzten Stoffe geprüft. Coffein wurde mit 0,1 n Jodlösung nachgewiesen. Das Verhalten der Farbstoffe wurde durch Farbvergleich erkannt.

Ergebnis:

Substanz	Angewandte Menge mg	F r a k t i o n - N r.					
		1	2	3	4	5	6
Formaldehyd	3	+ (+)					
Ammoniumchlorid	50	0*) +*)(+)*)					
Hexamethylen=tetramin:	50						
Formaldehyd		+ (+)					
Ammoniumionen		0 +					
Diphenyl	10	+ 0					
o-Phenylphenol	2	+ 0					
Diphenylamin	10	+ 0					
Thioharnstoff	10	+ 0					
Dulcin	10	+ 0					
Glutaminsäure	10	0 + (+)					
Glutaminsäure	10	0 + (+) 0					
Cholin	10	0 + (+) (+)					
Chinin	10	0 + 0					
Chinin	10	0 (+) + 0					
Coffein	10	+ (+) 0 0					
Orange GGN	5	+ 0					
Riboflavin	5	+ 0					
Curcumin	5	+ 0					

Tabelle 37: Versuche mit Kationenaustauscher I, stark sauer (Merck),
H-Form

- + : deutlicher Rückstand bzw. deutlich nachweisbar
 (+): kaum Rückstand bzw. kaum nachweisbar
 0 : kein Rückstand bzw. nicht nachweisbar
 *) : Nachweis von Ammoniumionen

Ein Versuch mit je 10 mg Chinin, Coffein, Cholin, Glutaminsäure und Ammoniumchlorid in 30 ml Aceton R 86 lieferte mit je 100 ml Fraktionen das erwartete Ergebnis wie bei der Prüfung der Einzelstoffe.

2.4.3 Trennversuch einer Stoffmischung

Analysenlösung: Je 1 - 250 mg Substanz wurden gemeinsam in 150 ml Aceton R 86 gelöst.

Austauscher : a) Kationenaustauscher I, stark sauer, H-Form, vorbereitet nach Abschnitt 2.4.2

b) Anionenaustauscher III, stark basisch, CO_3 -Form, vorbereitet nach Abschnitt 2.4.1.4

Elutionsdaten : Säulenmaße 1,0 x 10 cm, Durchflußgeschwindigkeit: 10 - 20 Tropfen/Min., Waschflüssigkeit: Aceton R 86, Elutionslösung: Schwefelsaures Aceton R 90

Ausführung:

Die Analysenlösung wurde zuerst durch den Kationenaustauscher gegeben. Dieser wurde mit 10 ml Waschlösung nachgewaschen. Dann wurde die Analysenflüssigkeit mit Anionenaustauschersuspension annähernd neutralisiert und im Anschluß daran durch die Anionenaustauschersäule gegeben. Es wurde mit 10 und 50 ml Waschlösung nachgewaschen. Der Kationenaustauscher wurde nicht eluiert. Die Elution des Anionenaustauscherharzes wurde mit 100 ml Elutionslösung und 100 ml Waschlösung durchgeführt. Es wurden demnach zwei Fraktionen erhalten:

Fraktion 1: 150 ml ausgetauschte Analysenlösung und 60 ml Waschflüssigkeit

Fraktion 2: 100 ml Elutionslösung und 100 ml Waschflüssigkeit

Beide Fraktionen wurden nach den in Abschnitt 1 beschriebenen Methoden auf die eingesetzten Stoffe geprüft. Die Ergebnisse zeigt Tabelle 38.

Substanz	Angewandte Menge mg	F r a k t i o n - N r.	
		1	2
p-Hydroxybenzoesäure= methylester	20	+	(+)
p-Hydroxybenzoesäure= äthylester	25	+	(+)
p-Hydroxybenzoesäure= propylester	25	+	(+)
Butylhydroxyanisol	1	+	0
Propylgallat	1	0	0
Nordihydroguajaretsäure	1	0	0
p-Chlorbenzoesäure	20	0	+
Salizylsäure	20	0	+
Äthylvanillin	5	+	+
Saccharin	10	0	+
Cyclamat	10	0	+
Dulcin	10	+	0
Glukonsäure-delta-lacton	250	(+) Lacton + Säure	

Tabelle 38: Versuch mit einer Stoffmischung

Austauscher: Kationenaustauscher I, stark sauer,
H-Form
Anionenaustauscher III, stark basisch,
CO₃-Form

+ : deutlich nachweisbar
(+): kaum nachweisbar
0 : nicht nachweisbar

2.4.4 Versuche mit einzelnen Stoffen und Stoffgruppen

Die Versuchsbedingungen waren, wenn nicht erwähnt, wie in Abschnitt 2.4.3.

2.4.4.1 Versuch mit p-Hydroxybenzoesäureestern

Analysenlösung: Je 20 mg des Methyl-, Äthyl- und Propylesters der p-Hydroxybenzoesäure in 150 ml Aceton R 86

Austauscher : a) Anionenaustauscher III, stark basisch, OH-Form, 1 x 2 cm
 b) Anionenaustauscher III, stark basisch, CO₃-Form, 1 x 8 cm

Ergebnis:

	Fraktion 1 150 ml ausgetauschte Ana- lysenlösung	Fraktion 2 100 ml Elutionslösung
PHB-Äthylester	+	+
PHB-Methylester	+	+
PHB-Propylester	+	+

Tabelle 39

+ : deutlich nachweisbar

2.4.4.2 Versuch mit Propylgallat und Nordihydroguajaretsäure

Analysenlösung: 6 mg Nordihydroguajaretsäure und 3 mg Propylgallat in 150 ml Aceton R 86

Austauscher : Kationenaustauscher I, stark sauer, H-Form
 Anionenaustauscher III, stark basisch, 1,0 x 2 cm OH-Form und 1,0 x 8 cm CO₃-Form

Ausführung:

50 ml der Analysenlösung wurden ohne weitere Behandlung mit Äther ausgeschüttelt (Fraktion 1). Die restlichen 100 ml der Analysenlösung wurden durch den Kationenaustauscher gegeben. Der Kationenaustauscher wurde mit 50 ml Aceton R 86 nachgewaschen. Von der nunmehr 150 ml betragenden Flüssigkeitsmenge wurden 75 ml mit Äther

ausgeschüttelt (Fraktion 2), der Rest wurde durch die Anionenaustauschersäule gegeben. Diese wurde mit 50 ml Waschflüssigkeit nachgewaschen und anschließend mit 100 ml Elutionslösung und 100 ml Waschflüssigkeit behandelt, d.h. es wurden 2 weitere Fraktionen erhalten, die ebenfalls mit Äther extrahiert wurden:

Fraktion 3: 75 ml ausgetauschte Analysenlösung und 50 ml Waschflüssigkeit

Fraktion 4: 100 ml Elutionslösung und 100 ml Waschflüssigkeit

Ergebnis:

Antioxydans	F r a k t i o n			
	1	2	3	4
Propylgallat	+	+	0	0
Nordihydroguajaret=säure	+	+	0	(+)

Tabelle 40

+ : deutlich nachweisbar
 (+): kaum nachweisbar
 0 : nicht nachweisbar

2.4.4.3 Versuch mit Glukose

Analysenlösung: 10 g Glukose in 100 ml Aceton R 86

Austauscher : A) Anionenaustauscher III, stark basisch, OH-Form,
1 x 10 cm

B) Anionenaustauscher III, stark basisch, CO₃-Form,
1 x 10 cm

Ausführung:

25 ml der Analysenlösung wurden, nach Entfernung des Acetons, auf 50 ml aufgefüllt und im 200 mm-Rohr polarisiert (Fraktion 1).

Jeweils 25 ml der Analysenlösung wurden durch Austauscher A und Austauscher B gegeben und wie folgt fraktioniert:

Fraktion 2: ausgetauschte Analysenlösung und 25 ml Waschflüssigkeit

Fraktion 3: 50 ml Waschflüssigkeit

Fraktion 4: 50 ml Wasser
und 5

Die Fraktionen 2 - 5 wurden wie Fraktion 1 behandelt.

Austauscher	Polarisation von Fraktion				
	1	2	3	4	5
A	+ 4,6	+ 1,9	+ 0,3	+ 0,6	+ 0,65
B	+ 5,2	+ 4,0	+ 1,15	-	-

Tabelle 41

- : nicht geprüft

2.4.4.4 Versuch mit Phosphaten

Analysenlösungen: a) 100 mg Natriumpyrophosphat wurden in wenig Wasser gelöst, mit Schwefelsäure angesäuert und mit Aceton R 86 auf 100 ml aufgefüllt. Die Lösung wurde vor Anwendung filtriert.

b) 100 mg Dinatriumhydrogenphosphat wurden in gleicher Weise gelöst.

Austauscher : Anionenaustauscher III, stark basisch, CO_3 -Form,
1 x 10 cm

Ausführung:

Die Analysenlösungen a und b wurden nach Neutralisation mit Anionenaustauschersuspension auf die Säule gegeben. Es wurden folgende Fraktionen erhalten:

Fraktion 1: ausgetauschte Analysenlösung und 50 ml Waschflüssigkeit

Fraktion 2: 100 ml Elutionslösung und 50 ml Waschflüssigkeit

Die Fraktionen wurden im Vakuum eingedampft, Fraktion 2 wurde zuvor alkalisiert, und der Rückstand in 5 ml salpetersaurem Wasser aufgenommen.

Ergebnis:

Substanz	F r a k t i o n	
	1	2
Pyrophosphat	0	Pyrophosphat nachweisbar
o-Phosphat	0	o- und Pyrophosphat nachweisbar

Tabelle 42

2.4.4.5 Versuch mit Emulgatoren

Analysenlösungen: Die in die wäßrige Lösung nach Abschnitt 2.1.2.4b (Tabelle 29) übergegangenen Emulgatoranteile wurden in 125 ml Aceton R 86 gelöst. Von Tween 20 wurden 250 mg verwendet.

Austauscher : a) Kationenaustauscher I, stark sauer, H-Form, 1 x 10 cm
 b) Anionenaustauscher III, stark basisch, CO₃-Form, 1 x 10 cm

Ausführung:

Die Analysenlösungen wurden erst durch den Kationenaustauscher gegeben und nachfolgend durch den Anionenaustauscher. Nachgewaschen wurde mit 50 ml Waschflüssigkeit. In der ausgetauschten und nachgewaschenen Analysenlösung wurden die Emulgatoranteile bei Span 80,

Tween 20 und Monoglycerid durch Auswiegen und bei Lecithin durch Phosphorbestimmung ermittelt. Weinsäureglycerid wurde hier und im Anionenaustauschereluat qualitativ nach Abschnitt 1.1.2.2 nachgewiesen. Der Nachweis von Span 80 im Anionenaustauschereluat wurde nach Abschnitt 1.2.6.5.2 durchgeführt.

Emulgator	Ausgetauschte Analysen= lösung + Waschflüssigkeit mg	Verlust %	Anionenaustauschereluat
Lecithin	5,51 (P ₂ O ₅)	20	-
Monoglycerid	56	10	-
Span 80	48	37	0*)
Weinsäureglycerid, acetyliert	(+)		+
Tween 20	243	3	-

Tabelle 43

+ : nachweisbar

(+): kaum nachweisbar

0 : nicht nachweisbar

*) : verestertes Sorbitan nicht nachweisbar

- : nicht eluiert

2.4.4.6 Versuch mit Ascorbylpalmitat

Analysenlösung: 100 mg Ascorbylpalmitat wurden wie in Abschnitt 2.1.2.4a für Emulgatoren beschrieben behandelt. Der Ätherextrakt der wäßrigen Phase betrug 63 mg. Diese wurden in 125 ml Aceton R 86 gelöst.

Austauscher : a) Kationenaustauscher I, stark sauer, H-Form,
1 x 10 cm
b) Anionenaustauscher III, stark basisch, CO₃-Form,
1 x 10 cm

Ergebnis:

Der Rückstand des Ätherextraktes der ausgetauschten Analysenlösung betrug 31 mg. Veresterte Ascorbinsäure war sowohl in der ausgetauschten Analysenlösung als auch in dem Anionenaustauschereluat nachweisbar.

2.4.5 Ermittlung der Austauscherkapazitäten

Ausführung:

5,0 ml der Austauschersuspension wurden mit 10,0 ml 1 n Schwefelsäure oder mit 20,0 ml 1 n Natronlauge versetzt. Die Suspension wurde 30 Min. geschüttelt und danach unter Nachwaschen mit Wasser filtriert. Im Filtrat wurde die nichtverbrauchte Schwefelsäure mit 1 n Natronlauge bzw. die nichtverbrauchte Natronlauge mit 1 n Schwefelsäure zurücktitriert.

- a) Anionenaustauscher III, stark basisch (Merck), für analytische Zwecke, nach Abschnitt 2.4.1.4 in die CO_3 -Form überführt:

Für 5,0 ml Austauschersuspension wurden 7,5 ml 1 n Schwefelsäure verbraucht. Das entspricht einer Kapazität von 1,5 Val/l Austauschersuspension mit etwa 20 Vol. % anhaftendem Wasser bzw. 1,9 Val/l Austauscher.

- b) Serdolit-Blau, stark basischer Anionenaustauscher mit Er-schöpfungsindikator, Gegenion: Carbonat, max. Kapazität 1,2 Val/l, Reinheitsgrad p.A. (Serva):

Für 5,0 ml Austauschersuspension wurden 4,0 ml 1 n Schwefelsäure verbraucht. Das entspricht einer Kapazität von 0,8 Val/l Austauschersuspension und 1,0 Val/l Austauscher.

- c) Kationenaustauscher I, stark sauer (Merck):

Für 5,0 ml Austauschersuspension wurden 9,55 ml 1 n Natronlauge verbraucht, das entspricht einer Kapazität von 1,9 Val/l Austauschersuspension und 2,4 Val/l Austauscher. Demgegenüber ist für den Kationenaustauscher Serdolit-Rot eine max. Kapazität

von 1,8 Val/l angegeben.

2.4.6 Reinheitsprüfung von Anionenaustauscherharzen

Ausführung:

- a) Anionenaustauscher III, stark basisch (Merck), für analytische Zwecke.

20 ml der nach Abschnitt 2.4.1.4 vorbereiteten Anionenaustauschersuspension wurden mit 150 - 200 ml schwefelsaurem Aceton R 90 extrahiert, abfiltriert und mit Aceton R 86 nachgewaschen. Das Eluat wurde alkalisiert, das Aceton im Vakuum abgezogen und die verbleibende wäßrige Lösung nach dem Ansäuern mit Schwefelsäure mit Äther extrahiert. Aus dem Äther wurde ein weißer, kristalliner Rückstand erhalten, der sich bei der Prüfung nach Abschnitt 1.2.5.1.1 wie Benzoesäure verhielt. Auch bei der kolorimetrischen Analyse nach Abschnitt 1.2.5.1.2 wurde mit der aus 20 ml Austauschersuspension herausgelösten Substanz eine gleichstarke und gleichartige Färbung erhalten wie mit 0,5 - 0,6 mg Benzoesäure.

Das gleiche Ergebnis wurde mit Serdolit-Blau (Serva) erzielt.

- b) Anionenaustauscher III, stark basisch (Merck) für analytische Zwecke, gereinigt.

Zur Extraktion der festgestellten Verunreinigung wurde der Austauscher mit Aceton - 2 n Salzsäure 2 + 1 bis zur Gelbfärbung des Austauschers versetzt und die Lösung abdekantiert. Es wurde erneut salzsaures Aceton zugegeben und der Austauscher während mehrerer Tage und unter häufigem Schütteln mit dieser Lösung extrahiert, die 3 - 4 mal erneuert wurde. Anschließend wurde das Harz mit Wasser gewaschen und wie in Abschnitt 2.4.1.4 beschrieben in die Carbonat-Form überführt. Aus dem Extrakt dieses Austauschers mit schwefelsaurem Aceton R 90 wurde weder ein weißer, kristalliner Rückstand erhalten noch konnten darin Spuren eines benzoessäureartigen Stoffes nachgewiesen werden.

2.4.7 Versuche zur quantitativen Bestimmung von Stoffen mit Ionenaustausch in wäßrig-organischer Lösung

2.4.7.1 Bestimmung der Ameisensäure

2.4.1.1 Versuche zur quantitativen Bestimmung

- a) Die gewichtsanalytische Bestimmung wurde entsprechend Abschnitt 1.2.5.2.2 durchgeführt. Sofern die zu untersuchende Lösung nach Art der Aufbereitung nicht bereits einen Natriumchloridgehalt von etwa 2 g aufwies, wurden diese zusätzlich zugegeben.
- b) Die kolorimetrische Bestimmung erfolgte nach (58).
- c) Behandlungen der ameisensäurehaltigen Lösungen

Versuch 1: Isolierung aus wäßriger Lösung am stark basischen Kationenaustauscher, Acetat-Form, und Elution mit 7,1 proz. Natriumsulfatlösung (140);

Versuch 2: Isolierung aus wäßrig-acetonischer Lösung am stark basischen Kationenaustauscher, Carbonat-Form, und Elution mit schwefelsaurem Aceton R 90;

Versuch 3: Eindampfen einer wäßrigen, ammoniakalischen Ameisensäurelösung auf dem Wasserbad;

Versuch 4: Eindampfen einer wäßrig-acetonischen, alkalischen Ameisensäurelösung auf dem Wasserbad;

Versuch 5: Überführung der Ameisensäure aus dem angesäuerten, entsprechend Versuch 4 erhaltenen Trockenrückstand, in Äther und Extraktion aus dem Äther mit Wasser;

Versuch 6: Durchführung wie Versuch 5, jedoch Extraktion der Ameisensäure aus dem Äther mit 1 n Natronlauge;

Versuch 7: Durchführung wie Versuch 6, die alkalisierte, acetonische Ameisensäurelösung wurde aber vor dem Eindampfen bis zur klaren Lösung mit Wasser versetzt und im Rotationsverdampfer zur Trockene gebracht. Die

Ergebnisse zeigt Tabelle 44.

Versuche	Vorgelegte Ameisen- säure mg	Gefundene Ameisensäure			
		kolorimetrisch		gravimetrisch	
		mg	%	mg	%
1 Eluat Durchlauf	10,58	1,65	16	10,2 0	97 0
2 Eluat Durchlauf	20,8	1,75	17	21,6 0	104 0
3	18,0			0	0
4	18,0			16,3	91
	10,58	6,9	65		
5	18,0			13,25	74
6	18,0			14,05	78
7	18,0			16,0	89

Tabelle 44: Behandlungen ameisensäurehaltiger Lösungen und er-
mittelter Ameisensäuregehalt (s. Text).

2.4.7.1.2 Ergebnisse bei Lebensmitteln

In Lebensmitteln, die nach Abschnitt 3 aufgearbeitet worden waren, wurde die Ameisensäure nach Abschnitt 1.2.5.2.2 bestimmt. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen zeigt Tabelle 45.

Lebensmittelart		Gravimetrisch ermittelter Ameisensäuregehalt mg/100 g
Konservengurken		0
Konservengurken		0
Konservengurken		4
Konservengurken		8
Konservengurken		4
Konservengurken		4
Konservengurken	(Abschnitt 4.2.3)	802 +
Mayonnaise		8
Mayonnaise		5
Mayonnaise		21
Fleischsalat		13
Fleischsalat		14
Grenadinesirup		2
Nußpaste		3
Käse	(Abschnitt 4.1.3)	6 ++
Backfett=		
mischung	(Abschnitt 4.2.5)	12 ++
Speiseeispulver	(Abschnitt 4.1.4)	6 ++
Kutterhilfsmit-		
tel	(Abschnitt 4.1.5)	8 ++
Tauchmasse für		
Salami	(Abschnitt 4.2.2)	3 ++
Konfitüre	(Abschnitt 4.2.1)	15 ++

Tabelle 45: Analytik von Ameisensäure in Lebensmitteln nach
Aufarbeitung im Trennungsgang

- + : Bestimmung ohne Trennungsgang durch Wasserdampf-
destillation nach FINCKE (5): 864 mg/100 g
- ++ : ohne Ameisensäurezusatz hergestellt. Die Her-
stellungsweise der restlichen Lebensmittel ist
nicht bekannt.

2.4.7.2 Bestimmung der Sorbinsäure und der Benzoesäure

2.4.7.2.1 Versuche mit Sorbinsäure

Diese wurden bei Käse mit einem Gehalt von 77 mg Sorbinsäure in 100 g (Abschnitt 4.1.3) ausgeführt. Jeweils 5,0 ml des ersten Ätherextraktes aus dem Anionenaustauschereluat (Abschnitt 3.2.2.2a) wurden an der Luft eingedunstet, der Rückstand mit 2 bzw. 5 ml 0,1 n Natronlauge aufgenommen und mit Wasser in einen 200 bzw. 250 ml Meßkolben überführt. Hierzu wurden je nach der zur Lösung verwendeten Menge an Natronlauge 2 bzw. 5 ml 0,1 n Salzsäure gegeben und der Kolben zur Marke aufgefüllt. Zur kolorimetrischen Bestimmung (57) wurden jeweils 2 ml der Lösungen verwendet. Die Ergebnisse zeigt Tabelle 46.

Versuch-Nr.	Zur Lösung angewandte Menge 0,1 n Natronlauge	Gesamt= volumen	Gefundene Sorbin= säure	
	ml		mg/100 g Käse	%
1	5	200	40	52
2	5	250	53	69
3	2	200	60	78

Tabelle 46: Sorbinsäuregehalt in Abhängigkeit von zugegebener Menge an Natronlauge und Verdünnung

Es wurden weiterhin 5,0 ml des ersten Ätherextraktes in 150 ml kaltes Wasser pipettiert (Versuch Nr. 4), das sich in einem 200 ml Meßkolben befand. Das Wasser wurde anschließend zur Verdampfung des Äthers und zur Lösung der Sorbinsäure einige Zeit auf dem Wasserbad erwärmt.

Bei Versuch 5 wurden 5,0 ml des ersten Ätherextraktes unter Umschwenken in 150 ml Wasser von 60°C pipettiert, diese Lösung wurde

ohne weitere Erwärmung nach dem Abkühlen auf 200 ml aufgefüllt. Schließlich wurde 5,0 ml des zweiten Ätherextraktes (Abschnitt 3.2.2.2b) in 60 ml Wasser von 60°C pipettiert und diese Lösung auf 100 ml aufgefüllt. Zur kolorimetrischen Bestimmung wurden jeweils 2 ml dieser Lösungen verwendet. Das Ergebnis zeigt Tabelle 47.

Versuch	Wassertemperatur °C	Gefundene Sorbinsäure	
		mg/100 g Käse	%
4	20 - 80	52,8	68,5
5	60	74,6	96,9
6	60	3,1	4,0

Tabelle 47: Wiederfinden von Sorbinsäure bei neutraler Lösung

2.4.7.2.2 Ergebnisse bei Lebensmitteln

In nach Abschnitt 3 aufgearbeiteten Lebensmitteln wurden Sorbinsäure und Benzoesäure nach Abschnitt 1.2.5.1.2 bestimmt. Tabelle 48 zeigt die Ergebnisse dieser Untersuchungen im Vergleich zu den Ergebnissen, die ohne Trennungsgang in denselben Lebensmitteln erhalten wurden.

Lebensmittel	Benzoesäure, mg/100 g		Sorbinsäure mg/100 g	
	Aufarbeitung ohne Trennungsgang (56)	Aufarbeitung mit Trennungsgang	Isolierung durch Was=serdampf=destilla=tion	Isolie=rung durch Tren=nungsg=gang
1 Konservengurken	56	52	-	-
2 Fleischsalat	4,3	4,6	-	-
3 Tonic Water	7,1	6,7	-	-
4 Fruchtsaftgetränk	1,6	2,9	-	-
5 Gurken (Abschnitt 4.2.3)	45*	43	-	-
6 Käse (Abschnitt 4.1.3)	-	-	78,6	77,7
7 Konfitüre (Abschnitt 4.2.1)	-	-	81,4	81,0

Tabelle 48: Kolorimetrische Analyse von Benzoesäure und Sorbinsäure in Lebensmitteln
Aufarbeitung ohne und mit Trennungsgang

*: Die Gurken wurden zur Lösung der Benzoesäure abweichend von (56) mit Aceton R 86 extrahiert.

2.4.7.3 Bestimmung von Zucker

In nach Abschnitt 3 aufgearbeiteten Lebensmitteln wurde der Zuckergehalt nach Abschnitt 1.2.6.6.2a bestimmt.

In Tabelle 49 sind die in Lebensmitteln hiernach erhaltenen Zuckergehalte im Vergleich zu den Zuckergehalten aufgeführt, die ohne Trennungsgang entweder durch Messung des Extraktes ohne Verdünnung (Nr. 2 - 4) bzw. nach Verdünnung und Klärung (Nr. 5a) oder durch komplexometrische bzw. polarimetrische Zuckerbestimmung (Nr. 1 und 5b) erhalten wurden.

Lebensmittelart	Z u c k e r %	
	ohne Trennungsgang bestimmt	mit Trennungsgang bestimmt
1 Nußpaste	13,3 ⁺	15,2 ⁺⁺⁺
2 Fruchtsaftgetränk	9,85 ⁺⁺	9,6 ⁺⁺⁺
3 Fruchtsaftgetränk	10,6 ⁺⁺	10,2 ⁺⁺⁺
4 Konfitüre (Abschnitt 4.2.1)	70 ⁺⁺⁺	64,8 ⁺⁺⁺
5 Tomatenketchup	a) 41,2 ⁺⁺	18,3 ⁺⁺⁺
	b) 20,3 ⁺⁺⁺⁺ (Saccharose, Stärkesirup und 2,9 % Dextrin)	(Saccharose und nahezu dextrinfreier Stärkesirup)

Tabelle 49: Quantitative Bestimmung von Zuckerstoffen in Lebensmitteln mit und ohne Trennungsgang

+: Saccharose und Invertzucker komplexometrisch bestimmt, noch vorhandene andere Zuckerstoffe wurden nicht bestimmt

++: pyknometrisch bestimmt

+++ : refraktometrisch bestimmt

++++: polarimetrisch bestimmt

2.5 Trennversuche durch Adsorptionschromatographie

Methodik:

Für alle Versuche wurden mit Teflonhähnen ausgestattete Glassäulen von 30 cm Länge und 1,3 cm Durchmesser verwendet. Die Glassäulen wurden unten mit Quarzwatte abgedichtet und das jeweilige Sorptionsmittel trocken eingefüllt. Die Adsorption erfolgte in allen Fällen bei Zimmertemperatur.

Die Desorption der eingesetzten Stoffe wurde mit folgenden, steigend polaren Lösungsmitteln durchgeführt:

- Elutionsmittel 1: Petroläther
- Elutionsmittel 2: Cyclohexan
- Elutionsmittel 3: Tetrachlorkohlenstoff
- Elutionsmittel 4: Trichloräthylen
- Elutionsmittel 5: Benzol
- Elutionsmittel 6: Chloroform
- Elutionsmittel 7: Äther
- Elutionsmittel 8: Methanol

Auch die Desorption wurde bei Zimmertemperatur ausgeführt, Methanol wurde in einigen Fällen vorher auf etwa 60°C erwärmt. Adsorption und Desorption erfolgten bei einer Durchflußgeschwindigkeit von etwa 60 Tropfen/Min.

2.5.1 Vorversuche mit verschiedenen Sorbentien

a) 10 g Aluminiumoxid Woelm, sauer, Aktivitätsstufe I, zur Chromatographie

10 - 1000 mg Substanz wurden in wenig Petroläther gelöst. Die Auftrennung wurde nach den in den einzelnen 50 ml Fraktionen erhaltenen Rückstandsmengen beurteilt. Die Ergebnisse zeigt Tabelle 50.

Substanz	Angewandte Menge	Elutionsmittel							
		1	2	3	4	5	6	7	8
Butylhydroxy- toluol	10 mg	+	(+)	0	0	0	0	0	0
Pflanzenöl	1000 mg	+	+	+	+	+	+	0	0
Diphenyl	10 mg	0	+	+	0	0	0	0*	0
Diphenyl- amin	10 mg	0	0	+	+	(+)*	0	0	+
o-Phenyl- phenol	10 mg	0	0	(+)	0	0	0	0	(+)*

Tabelle 50: Vorversuch mit Fett und fettlöslichen Stoffen

Sorbens: Aluminiumoxid Woelm, sauer, Aktivitäts-
stufe I

- + : Rückstand
 (+): kaum Rückstand
 0 : kein Rückstand
 * : Verfärbungen

b) 10 g Kieselgel Woelm, Aktivitätsstufe I, für die Adsorptions-
chromatographie

2 - 1000 mg Substanz wurden in Petroläther gelöst. Bixin wurde in Aceton gelöst, mit wenig Kieselgel vermischt und nach dem Trocknen auf die Säule gegeben. Auftrennung wie in Versuch a. Die Ergebnisse zeigt Tabelle 51.

Substanz	Angewandte Menge mg	Elutionsmittel							
		1	2	3	4	5	6	7	8
Paraffin	100	+	0	0	0	0	0	0	0
Butylhydroxy- toluol	10	0	0	-	+	0	0	0	0
Pflanzenöl	1000	0	0	0	+	+	+	+	0
Diphenyl	10	0	0	+	+	0	0	0	0
Diphenylamin	10	0	0	-	(+)	+	(+)	0	0
o-Phenyl- phenol	10	0	0	0	0	0	0	+	0
Bixin	2	0	0	0	+	0	0	+	+
Span 80	100	0	(+)	0	0	(+)	0	+	+
Äthylvanillin	10	0	0	0	0	0	+	+	(+)
Butylhydroxy- anisol	10	0	0	0	0	0	+	+	(+)
Monoglycerid	100	0	0	0	0	0	(+)	+	(+)
Stearyl-gallat	20	0	-	-	0	0	-	+	(+)*

Tabelle 51: Vorversuch mit Fett und fettlöslichen Stoffen

Sorbens: Kieselgel Woelm, Aktivitätsstufe I
zur Adsorptionschromatographie

- + : Rückstand
 (+): kaum Rückstand
 0 : kein Rückstand
 - : Fraktion wurde ausgelassen
 * : Verfärbung

2.5.2 Versuche mit Butylhydroxytoluol

- Analysenlösungen:
- 10 mg Butylhydroxytoluol in 100 ml absolutem Äthanol
 - 10 mg Butylhydroxytoluol in 100 ml Petroläther (Siedepunkt bis etwa 40°C)
 - 4,0 g Pflanzenöl in 100 ml Petroläther (Siedepunkt bis etwa 40°C)

a) Versuche zur Feststellung von Eindampfverlusten

Versuch 1 - 4: Jeweils 0,1 mg BHT wurden als Lösung a bzw. b mit verschiedenen Zusätzen und unter verschiedenen Bedingungen zur Trockene gebracht, der Trockenrückstand in 1 ml Petroläther gelöst und 0,01 - 0,1 ml der Lösung nach Abschnitt 1.1.4.1a chromatographiert. Als Vergleich wurde 0,01 ml Lösung b aufgetragen. Bei Versuch 5 wurde das zur Adsorption verwendete und im Vakuum getrocknete Kieselgel mit 10 ml Aceton versetzt und 0,01 ml dieser Lösung aufgetragen. Die Ergebnisse zeigt Tabelle 52.

Versuch-Nr.	Lösung a b	Äthanol ml	Zusatz von Äther Kieselgel ml g	Eindampfart	Nachweis von Butylhydroxy= toluol
1	1,0			Wasserbad (100°C)	0
2	1,0	9		Vakuum	< Vergleich
3	1,0			Eindunsten an der Luft (20°C, 12 Stunden)	< Vergleich
4	1,0		9	Vakuum	= Vergleich
5	10,0		3	Vakuum	< Vergleich

Tabelle 52: Eindampfverluste von Butylhydroxytoluol

b) Versuche an der Kieselgelsäule

10 g Kieselgel Woelm, Aktivitätsstufe I, zur Adsorptionschromatographie

Die Analysenlösung wurde bei Versuch-Nr. 6-8 mit 3 g Kieselgel vermischt und nach dem Trocknen an der Luft nach etwa einer Stunde fraktioniert. Bei Versuch 9 wurde die Analysenlösung mit 20 g Öl und 40 ml absolutem Äthanol bis zur klaren Lösung erhitzt. Nach dem Erkalten wurde die Äthanolphase vom Öl getrennt

und im Vakuum auf 10 ml eingeeengt, erneut bis zur klaren Lösung erhitzt und nach dem Erkalten von ausgeschiedenem Öl getrennt. Der Ölgehalt in der Äthanolphase betrug nach Abschnitt 2.1.1.3 etwa 0,3 g. Die Äthanolphase wurde mit 3 g Kieselgel vermischt, das Lösungsmittel innerhalb 12 Stunden an der Luft abgedunstet und der Rückstand fraktioniert. Der Abzug der Elutionsmittel zum Nachweis von BHT erfolgte im Vakuum bis auf etwa 2 - 3 ml, der Rest wurde an der Luft abgedunstet. Im Rückstand wurde der Nachweis von BHT in gleicher Weise wie bei dem vorhergehenden Versuch durchgeführt. Die Ergebnisse zeigt Tabelle 53.

Versuch- Nr.	Lösung			Je 100 ml Elutionsmittel						
	a	b	c	1	2	3	4	5	6	7
6	1,0			0	0	-	-	= Vgl.	-	(+)
7	1,0	10,0		0	-	< Vgl. *)	(+)**)	-	-	-
8	1,0			0	-	= Vgl.	(+)	0	0	-
9***)	1,0			0	-	< Vgl.	+**)	-	-	-

Tabelle 53: Versuche mit Butylhydroxytoluol an der Kieselgelsäule

- + : nachweisbar
- (+) : schwach nachweisbar
- 0 : nicht nachweisbar
- : Fraktion wurde ausgelassen
- < Vgl. : schwächer als Vergleich
- = Vgl. : wie Vergleich
- *) : weitere 100 ml Elutionsmittel 3: (+)
- **) : Fettbestandteile vorhanden
- ***): Ölgehalt bei Fraktionierung etwa 0,3 g

2.5.3 Versuche mit Emulgatoren

a) ohne Fett

Jeweils 500 mg Emulgator wurden in 10 ml absolutem Äthanol gelöst, die Lösung mit 3 g Kieselgel versetzt und im Vakuum zur Trockene

gebracht. Die Fraktionierung von Zitronensäureglycerid wurde mit 100 mg des in Chloroform gelösten Emulgators wiederholt. Das den Emulgator enthaltende Kieselgel wurde auf die 10 g-Kieselgelsäule gebracht und anschließend eluiert. Die erhaltenen 100 ml-Fractionen wurden eingedampft und die Rückstände nach den Abschnitten 1.2.6.5 und 1.1.2 auf die jeweils eingesetzten Emulgatoren geprüft. Die Ergebnisse zeigt Tabelle 54.

Emulgator	Elutionsmittel					
	1	3	4	5	7	8
Span 80	0	0	0	0	+	+
Weinsäureglycerid, acetyliert	0	0	0	0	+	+
Lecithin	0	(+)	(+)	0	(+)	+
Zitronensäure-glycerid, 500 mg*)	+	+	+	0	+ **)	+ **)
Zitronensäure-glycerid, 100 mg	0	0	(+)	0	+ **)	+ **)

Tabelle 54: Versuch mit Emulgatoren an der Kieselgelsäule
Kieselgel Woelm, Aktivitätsstufe I

+ : nachweisbar

(+): kaum nachweisbar

0 : nicht nachweisbar

*) : nicht adsorbiert

**) : Zitronensäureglycerid und Monoglyceridbestandteil
von HOMODAN Zi (GRINDSTED-Product)

b) mit Fett

Die in den Versuchen des Abschnittes 2.1.2.5.2f erhaltenen Äthanolextrakte wurden mit 3 g Kieselgel vermischt, innerhalb 12 Stunden an der Luft eingetrocknet und auf die Säule gebracht. Die Versuchsausführung entsprach der des vorhergehenden Versuchs,

jedoch wurde Methanol mit 60°C aufgebracht.

Ergebnis:

Emulgator	Emulgatorrest im Öl, mg (vgl. Ab= schnitt 2.1.2.4b)	Elutionsmittel					
		1	3	4*	5*	7*	8 (60°C)
Span 80	24	0	0	0	0	0	(+)
Weinsäure= glycerid, acetyliert	90	0	0	0	0	(+)	+
Monoglycerid	38	0	0	0	0	0	+
Zitronensäure= glycerid	86	0	0	0	0	0	+

Tabelle 55: Fraktionierung und Nachweis von Emulgatoren bei
Gegenwart von Fett
(Fortsetzung der Versuche von Abschnitt 2.1.2.4b bzw.
2.1.2.5.2f)

+ : nachweisbar

(+): kaum nachweisbar

0 : nicht nachweisbar

* : Die Fraktionen 4,5,7 enthielten in allen Fällen
zunehmend Fettbestandteile

2.5.4 Versuche mit Farbstoffen, Emulgatoren, Antioxydantien und Lebensmitteln

Analysenproben: a) Je 2 mg β -Apo-8'-carotinsäureäthylester und
 β -Apo-8'-carotinal, 0,6 g Öl in 10 ml Petrol=
äther (Siedepunkt bis etwa 40°C)

b) 100 mg Zitronensäureglycerid und 25 g Butterfett

c) 100 mg Zitronensäureglycerid, 0,25 mg Butyl=
hydroxytoluol, 50 g Mayonnaise (50 % Fett),

0,5 ml Schwefelsäure (10 n), 125 ml Petroläther-Aceton-Äthanol R 87

- d) 100 mg Weinsäureglycerid, 2 mg Canthaxanthin, je 0,5 mg Butylhydroxyanisol und Äthylgallat, 50 g Buttergebäck (mit 20 % Wasser), 15 ml Wasser, 0,5 ml Schwefelsäure (10 n), 125 ml Petroläther-Aceton-Äthanol R 87

Ausführung:

Analysenprobe a wurde mit 3 g Kieselgel vermischt und nach dem Trocknen auf die 10 g-Kieselgelsäule gebracht.

Analysenprobe b wurde nach Zugabe von 50 ml absol. Äthanol wie die Fettphase in Abschnitt 2.1.2.5.2b behandelt. Die eingeeengte Äthanolphase wurde ohne Filtration zur Fraktionierung verwendet. Versuchsbedingungen wie in Versuch 2.5.3.

Analysenproben c und d wurden 12 Stunden nach der Einwaage zentrifugiert und die flüssigen Phasen unter Zugabe von 25 ml Wasser und 20 ml Petroläther, der zuvor zum Auswaschen des unlöslichen Rückstandes verwendet worden war, getrennt. Die Petrolätherphase wurde einmal mit 50 ml Aceton R 86 gewaschen und nach Entfernung der Lösungsmittel bei Probe c in 50 ml absol. Äthanol und bei Probe d in 30 ml absol. Äthanol gelöst. Die weitere Aufarbeitung entsprach der der Fettphase in Abschnitt 2.1.2.5.2b, die eingeeengte Äthanolphase wurde jedoch ohne Filtration zur Fraktionierung verwendet. Der Nachweis der Emulgatoren und der Antioxydantien in der wäßrigen Phase und in den Fraktionen der Kieselgelsäule erfolgte nach den Abschnitten 1.1.2, 1.1.4.1a und 1.2.1.1. Die Ergebnisse zeigt Tabelle 56.

Analysen= probe	Wäßrige Phase		F e t t p h a s e				
	Antioxy=	Emulgato=	Antioxydantien und Emulgatoren in den Frak=				
	dantien	ren	tionen der Kieselgelsäule***)				
			1 3	4*)	5*)	7*)	8 (60°C)
a	-	-	0 0	0	6-Apo-8'- carotin= säure= ester	2-Apo-8'- caroti= nal	0
b	-	-	0 0	0	0	0	Zitronen= säuregly= cerid Monogly= cerid
c	0	Mono= gly= cerid **)	0 Butyl= hydroxy= toluol	Butyl= hydroxy= toluol	0	0	Zitronen= säuregly= cerid Monogly= cerid
d	Butylhydroxy= anisol, Äthylgallat	Wein= säure= glyce= rid	0 0	0	0	Can= thaxan= thin	Weinsäure= glycerid

Tabelle 56: Versuche mit Farbstoffen, Emulgatoren, Antioxydantien und Lebensmitteln

0 : kein zugesetzter Stoff nachweisbar

- : entfällt

*) : Fraktion mit Fettbestandteilen

**) : als Bestandteil des Zitronensäureglycerids

***): Fraktionierung: je 100 ml bei 20°C, Elutionsmittel 8 bei 60°C

2.5.5 Versuche mit Fruchtbehandlungstoffen

2.5.5.1 Versuche zur Extraktion von Zitrusfruchtschalen und Adsorption von Fruchtbehandlungstoffen

Analysenproben: Zu 20 g Orangenschalen (Wassergehalt etwa 90 %) wurden folgende Stoffe gegeben:

Versuch a): Je 10 mg Diphenyl, Diphenylamin, Thioharnstoff und o-Phenylphenol, 40 g Na_2SO_4 , 50 ml Petroläther-Aceton R 88, einige Tropfen 25 proz. Salzsäure;

Versuch b): 2 mg Ceresrot G, je 20 mg Diphenyl, Diphenylamin, o-Phenylphenol und Thioharnstoff, 40 g Na_2SO_4 , 50 ml Petroläther-Aceton R 88, wenige Tropfen 25 proz. Salzsäure;

Versuch c): Je 10 mg Diphenylamin und Thioharnstoff, 6 mg o-Phenylphenol, 2 mg Ceresrot G, 50 ml Petroläther-Aceton R 88, wenige Tropfen 25 proz. Salzsäure.

Die Proben wurden nach 12 Stunden weiter verarbeitet.

Aufarbeitung der Analysenproben

Versuch a):

Die Petroläther-Acetonlösung wurde abfiltriert und Schalen und Filter mit 30 ml Petroläther-Aceton R 88 nachgewaschen. Zu dem Filtrat wurden 3 g Kieselgel Woelm gegeben und die Lösungsmittel im Vakuum abgezogen. Das danach noch feuchte Kieselgel wurde mit Natriumsulfat verrieben und anschließend fraktioniert.

Versuch b):

Die Extraktionslösung wurde in gleicher Weise wie bei Versuch a) filtriert und nachgewaschen. Das Filtrat wurde anschließend mehrere Stunden mit 20 g Calciumchlorid getrocknet. Die überstehende Petroläther-Acetonlösung wurde abfiltriert, der Calciumchlorid-Rückstand zweimal mit 25 ml Petroläther-Aceton R 88 gewaschen und die vereinigten Lösungen nach Zusatz von 3 g Aluminiumoxid, stand. nach Brockmann, im Vakuum zur Trockene gebracht. Das orangefarbene, pulverige Aluminiumoxid wurde anschließend fraktioniert.

Versuch c):

Wäßrige Phase und Petrolätherphase wurden im Scheidetrichter ge-

trennt und die wäßrige Phase nach dem Verdünnen mit Wasser mit Äther ausgeschüttelt. Petroläther- und Ätherphase wurden vereinigt, mit Natriumsulfat getrocknet und anschließend nach Zusatz von 3 g Kieselgel Woelm zur Trockene gebracht. Die wäßrige Phase wurde im Vakuum bis auf wenige ml eingedampft, die mit Seesand zur Trockene gebracht wurden. Seesand und Kieselgel wurden vereinigt und fraktioniert.

Die Untersuchungsergebnisse der einzelnen 60 ml Fraktionen aus der 10 g-Kieselgelsäule auf die zugesetzten Fruchtbehandlungsstoffe nach Abschnitt 1.2.6.2.1a sind in Tabelle 57 aufgeführt.

Elutionsmittel	Eluierte Orangenbestandteile	Eluierte Fruchtbehandlungsstoffe V e r s u c h		
		a	b	c
1.	Ätherisches Öl	0	0	0
2	0	-	0	-
3	0	Diphenyl	Diphenyl	-
4	0	o-Phenyl= phenol Diphenylamin	Diphenylamin	-
5	Orangefarbene und wachsartige Stoffe	o-Phenyl= phenol	o-Phenyl= phenol (Diphenyl= amin)	-
6	Orangefarbene und wachsartige Stoffe	o-Phenyl= phenol	(o-Phenyl= phenol)	Diphenyl= amin o-Phenyl= phenol
7	Orangefarbene Stoffe	o-Phenyl= phenol	(o-Phenyl= phenol) Ceresrot G	Ceresrot (o-Phenyl= phenol)
8	(Versuch c: viel Extrakt)	Thioharn= stoff	Thioharn= stoff	Thioharn= stoff

Tabelle 57: Extraktion von Zitrusfruchtschalen und Adsorption von Fruchtbehandlungsstoffen

0 : kein Rückstand und kein positiver Nachweis

- : Fraktion wurde ausgelassen

() : schwach nachweisbar

2.5.5.2 Quantitative Bestimmung von Fruchtbehandlungsstoffen

2.5.5.2.1 Quantitative Bestimmung von Diphenyl

a) Verlustbestimmung nach Abdampfen des Lösungsmittels

In Petroläther-Aceton-Mischung R 88 gelöstes Diphenyl wurde ohne und mit Adsorbens und ohne Adsorbens aber mit Zusatz von Tetrachlorkohlenstoff am Rotationsverdampfer bis fast zur Trockene gebracht. Der Rest des Lösungsmittels wurde an der Luft eingedunstet. Mit dem in 30 ml Chloroform gelösten Rückstand wurde die kolorimetrische Bestimmung nach Abschnitt 1.2.6.2.1b durchgeführt. Die Ergebnisse zeigt Tabelle 58.

Lösungsmittel	Adsorbens	Vorgelegtes Diphenyl mg	Gefundenes Diphenyl mg	Verlust %
Petroläther-Aceton R 88, 5 ml	-	2,17	1,71	21,2
Petroläther-Aceton R 88, 20 ml	Kieselgel Woelm 8,7 zur Chrom., 3 g*		8,3	4,5
Petroläther-Aceton R 88, 5 ml und 50 ml Tetra- chlorkohlenstoff	-	2,17	1,57	27,6

Tabelle 58: Eindampfverluste

* : mit 100 ml Chloroform eluiert

b) Einfluß des Lösungsmittels bei der Nitrierung

Diphenyl wurde in Tetrachlorkohlenstoff und in Chloroform mit Tetrachlorkohlenstoffzusatz nitriert und anschließend kolorimetrisch nach Abschnitt 1.2.6.2.1b bestimmt. Die Ergebnisse zeigt Tabelle 59.

Nitrierflüssigkeit	Vorgelegtes Diphenyl	Gefundenes Diphenyl	
	mg	mg	%
30 ml Tetrachlorkohlenstoff und 6 ml Salpetersäure (98,6 %)*	4,26	2,62	61,5
10 ml Tetrachlorkohlenstoff, 20 ml Chloroform und 6 ml Salpetersäure (98,6 %)	4,26	3,36	78,8
6 ml Tetrachlorkohlenstoff, 25 ml Chloroform und 6 ml Salpetersäure (98,6 %)	2,13	2,04	95,6
2 ml Tetrachlorkohlenstoff,** 30 ml Chloroform und 6 ml Salpetersäure (98,6 %)	2,13	2,12	99,5

Tabelle 59: Kolorimetrische Analyse von Diphenyl

Einfluß des Lösungsmittels bei der kolorimetrischen
Bestimmung

* : stark abweichende Färbungen während der kolori-
metrischen Analyse

** : Die Lösung von 2,13 mg Diphenyl in 50 ml Tetra-
chlorkohlenstoff wurde am Rotationsverdampfer
bis auf 2 ml eingedunstet.

2.5.5.2.2 Quantitative Bestimmung von o-Phenylphenol

Bei Versuch a - d wurden je 1,0 mg o-Phenylphenol in 10 ml Petroläther-Aceton R 88 gelöst. Nach Zusatz von jeweils 3 g Kieselgel Woelm, Aktivitätsstufe I, zur Adsorptionschromatographie, wurden die Lösungsmittel an der Luft unter gelegentlichem Umschwenken abgedunstet. Das trockne Kieselgel wurde unter Nachspülen mit Petroläther auf die 10 g-Kieselgelsäule gegeben und anschließend in 100 ml Fraktionen eluiert. Die Bestimmung des o-Phenylphenols in den Fraktionen erfolgte nach Abschnitt 1.2.6.2.1c. Die Ergebnisse zeigt Tabelle 60.

Versuch	o-Phenylphenol (mg) in 100 ml Elutionsmittel				
	1	3	4	5	6
a	0	0	0	0,9	-
b	0	0	-	1,0	-
c	n.b.	n.b.	-	1,0	-
d	0	0,1	-	0,9	0,03

Tabelle 60: Quantitative Bestimmung von o-Phenylphenol nach Fraktionierung an der Kieselgelsäule

Säulenfüllung : 10 g Kieselgel Woelm, Aktivitätsstufe I

Vorgelegte Menge : je 1,0 mg o-Phenylphenol, an 3 g Kieselgel Woelm adsorbiert

- : Fraktion wurde ausgelassen

0 : nicht nachweisbar

n.b.: Nachweisreaktion nicht durchgeführt

2.5.5.2.3 Ergebnisse bei Zitrusfruchtschalen

Zitrusfrüchte aus dem Handel wurden nach Abschnitt 3.5.1 analysiert. Tabelle 61 zeigt die Ergebnisse der quantitativen Bestimmung von Diphenyl und o-Phenylphenol nach Isolierung an der Kieselgelsäule im Vergleich zu den Werten, die nach Isolierung durch Wasserdampfdestillation erhalten wurden.

Zitrusfrüchte	Wasserdampfdestillation (75)		Abtrennung mit Kieselgelsäule (Abschnitt 3.5.1) und kolorimetrische Bestimmung nach Abschnitt 1.2.6.2.1b und c	
	Diphenyl mg/Kilo=gramm	o-Phenyl=phenol mg/Kilo=gramm	Diphenyl mg/Kilogramm	o-Phenylphenol mg/Kilogramm
Grapefruits*	38	2,0	45	0,9
Grapefruits*	50	1,8	58	0,9
Orangen	4	0,2	-	0,5
Orangen*	68	2,6	62	1,8
Grapefruits*	-	1,5	42	1,5
Grapefruits*	53	1,7	55	1,2
Vergleich**	-	-	4,0 mg	1,0 mg

Tabelle 61: Kolorimetrische Analyse von Diphenyl und o-Phenylphenol in Zitrusfrüchten nach Isolierung durch Wasserdampfdestillation und nach Isolierung im Trennungsgang

* : Nachweis von Diphenyl und o-Phenylphenol nach Abschnitt 1.2.6.2.1a positiv

** : 4,0 mg Diphenyl, je 1 mg o-Phenylphenol, Diphenylamin und Thioharnstoff, vorbehandelt wie Zitrusfrüchte

- : nicht bestimmt

2.6 Analytik von Polysacchariden ohne und mit Quellstoffeigenschaften

2.6.1 Hydrolyseversuche von Quellstoffen auf Kohlenhydratbasis

a) Je 10 ml 1 proz. wäßrige, neutrale Quellstofflösungen wurden im Siko-Spezialtopf 15, 45 und 105 Min. bei 140°C, ungefähr

3 atü, erhitzt. Die Viskosität der Lösungen war danach deutlich herabgesetzt, bei einigen Quellstoffen waren nach 15 Min. (Pektin) und 45 Min. (Gummi arabicum) Monosaccharide und Uronsäuren nachweisbar. Der Versuch wurde in 0,1 n schwefelsaurer Lösung wiederholt. Die Ergebnisse zeigt Tabelle 62.

Quellstoff Autoklavierungszeit (Min.)	15	45	105
	Konzistenz Unge- löste Substanz	Konzistenz Unge- löste Substanz	Konzistenz Unge- löste Substanz
	Hydrolyse- produkte	Hydrolyse- produkte	Hydro- lyse- produkte
Carraheen	dünn- flüssig (+) (Galaktose Xylose)	dünn- flüssig, (+) Gelb (Galaktose Xylose)	dünn- flüssig, (+) orange (Galaktose Xylose)
Guarmehl	flüssig + Galaktose Mannose	flüssig, + Gelb Galaktose Mannose	dünn- flüssig, + Gelb Galaktose Mannose
Treganth	flüssig + Uronsäure Galaktose Glukose Arabinose Xylose Fucose	flüssig, + Gelb Uronsäure Galaktose Glukose Arabinose Xylose Fucose	dünn- flüssig, + Gelb Uronsäure Galaktose Glukose Arabinose Xylose Fucose
Gummi arabicum	flüssig (+) Uronsäure Galaktose Arabinose Rhamnose	flüssig, + Gelb Uronsäure Galaktose Arabinose Rhamnose	dünn- flüssig, (+) schwarz Uronsäure Galaktose Arabinose Rhamnose
Zitruspektin	flüssig (+) Uronsäure	flüssig, (+) orange Uronsäure (Arabinose) (Xylose)	dünn- flüssig, (+) schwarz Uronsäure (Arabinose) (Xylose)

Tabelle 62: Autoklavierung von Quellstoffen in 0,1 n schwefelsaurer Lösung

+ : vorhanden

() : geringe Mengen vorhanden

- b) Die bei Versuch a nach Autoklavierung in 0,1 n Schwefelsäure ungelöst gebliebenen Quellstoffsubstanzen wurden in 1 n Schwefelsäure suspendiert und eine Stunde bei 140°C, ungefähr 3 atü, autoklaviert. Das Ergebnis zeigt Tabelle 63.

Quellstoffrückstand	Hydrolyseprodukte
Carrageen	0
Guarmehl	0
Traganth	0
Gummi arabicum	0
Zitronenpektin	0

Tabelle 63

0: nicht nachweisbar

- c) Je 50 mg Stärke, Dextrin, Methylcellulose, Johannisbrotkernmehl, Agar-Agar, Alginsäure und Carboxymethylcellulose wurden in 5 ml 0,1 n Schwefelsäure gelöst bzw. suspendiert und eine Stunde bei 140°C, ungefähr 3 atü, autoklaviert. Alginsäure und Carboxymethylcellulose wurden zuvor aus der wässrigen Lösung ihrer Natriumsalze durch Ansäuern mit Schwefelsäure und Zugabe von Äthylalkohol gefällt. Für die einzelnen Quellstoffe wurden die in Tabelle 21 aufgeführten Hydrolyseprodukte erhalten.

2.6.2 Ergebnisse bei Lebensmitteln

Bei Lebensmitteln wurden die im Rahmen des Trennungsganges erhalte=

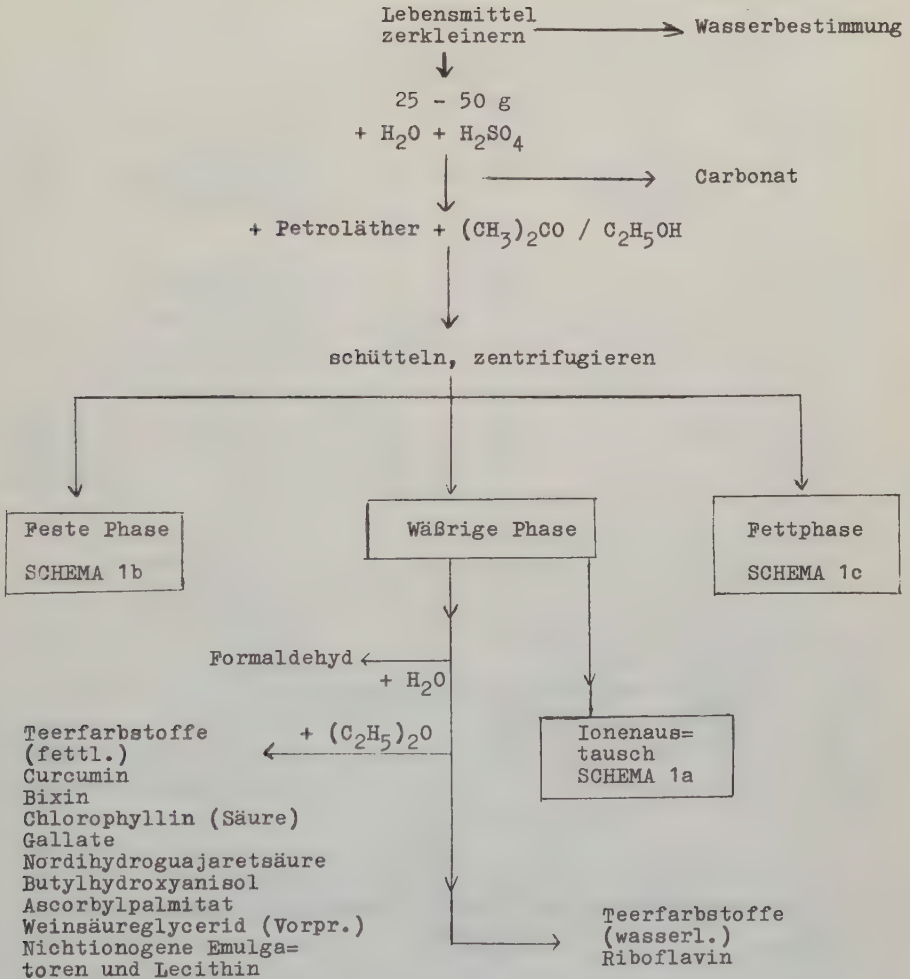
nen Quellstoffniederschläge (Abschnitt 3.4.2) nach den Abschnitten 1.3.3.1 und 1.3.3.2 untersucht. Die Ergebnisse quellstofffreier und quellstoffhaltiger Lebensmittel zeigt Tabelle 64.

Lebensmittel	Hydrolyseprodukte nach Abschnitt 1.3.3.1	Uronsäure (hRf - Wert 10)	Galaktose	Arabinose	Mannose	Xylose	Rhamnose Fucose	Glukose	Pherogramm nach Abschnitt 1.3.3.2
Senfmehl		(+)	+	+		+	+		nicht wie von Quellstoffen
Senf		(+)	+	+		+	+		" " " "
Meerrettich		(+)	(+)	+		+		+	" " " "
Sojabohnenmehl			+	+		+	+		" " " "
Mayonnaise		+	+	+		+	+	+	" " " "
Nußpaste		(+)	+	+		+	(+)	(+)	" " " "
Nugat		(+)	+	+		+	(+)	(+)	" " " "
Erdnußpaste		(+)	+	+		+	(+)	+	" " " "
Curcmapulver								+	Stärke bzw. Dextrin
Erdnußmus								+	" " "
Mayonnaise								+	" " "
Tomatenketchup								+	" " "
Mayonnaise			+		+				Johannisbrotkernmehl
Tartar-Sauce		+	+	+		+	(+)	+	Traganth und Stärke
Paprikagewürz		+	+	+		+	(+)	+	Traganth
Cumberland-sauce		+	(+)	(+)					Pektin

Tabelle 64: Quellstoffnachweis bei Lebensmitteln

+ : deutlich nachweisbar
 (+) : schwach nachweisbar

3. Systematischer Trennungsgang

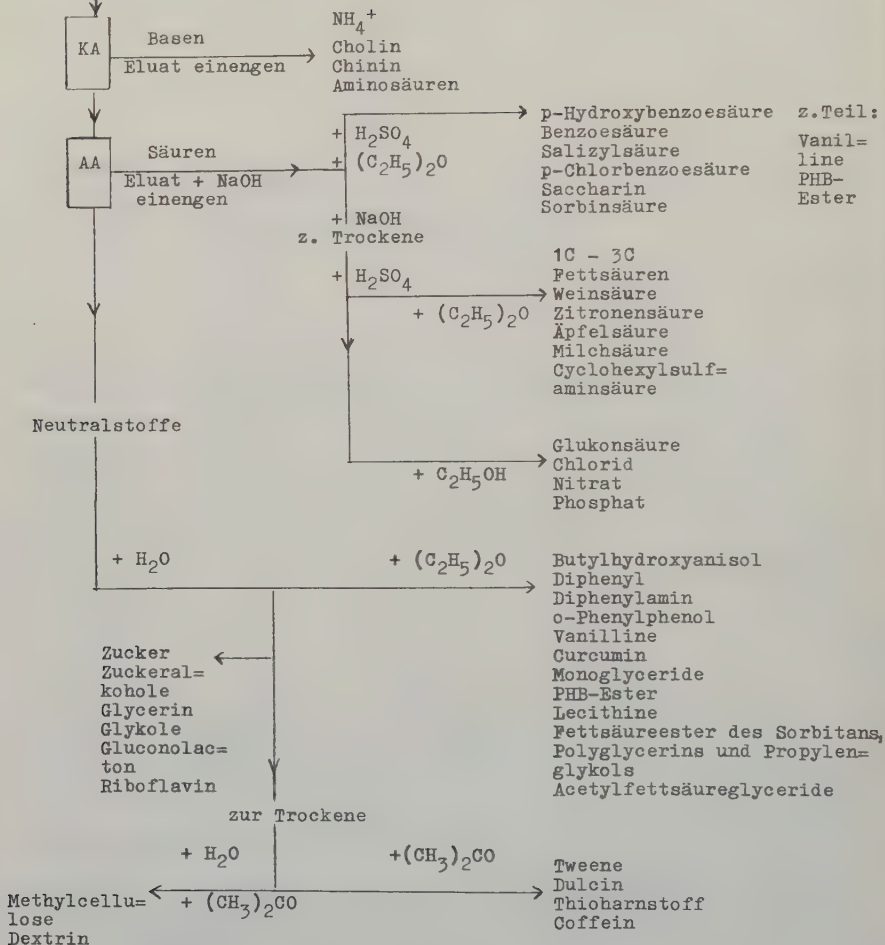


SCHEMA 1 des Trennungsganges

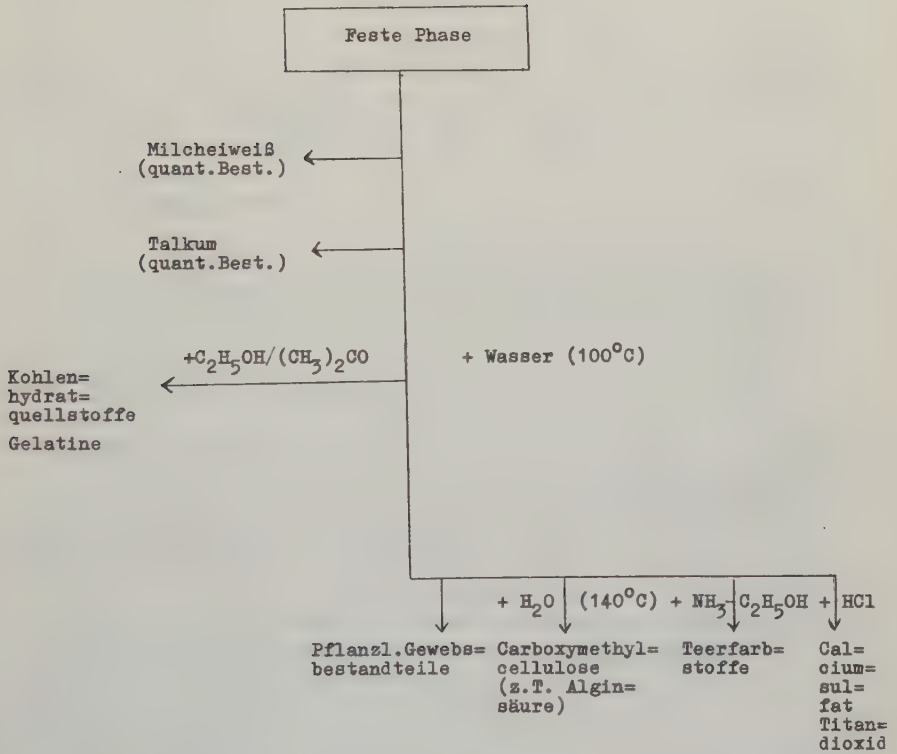
Es bedeuten: KA: Kationenaustauscher

AA: Anionenaustauscher

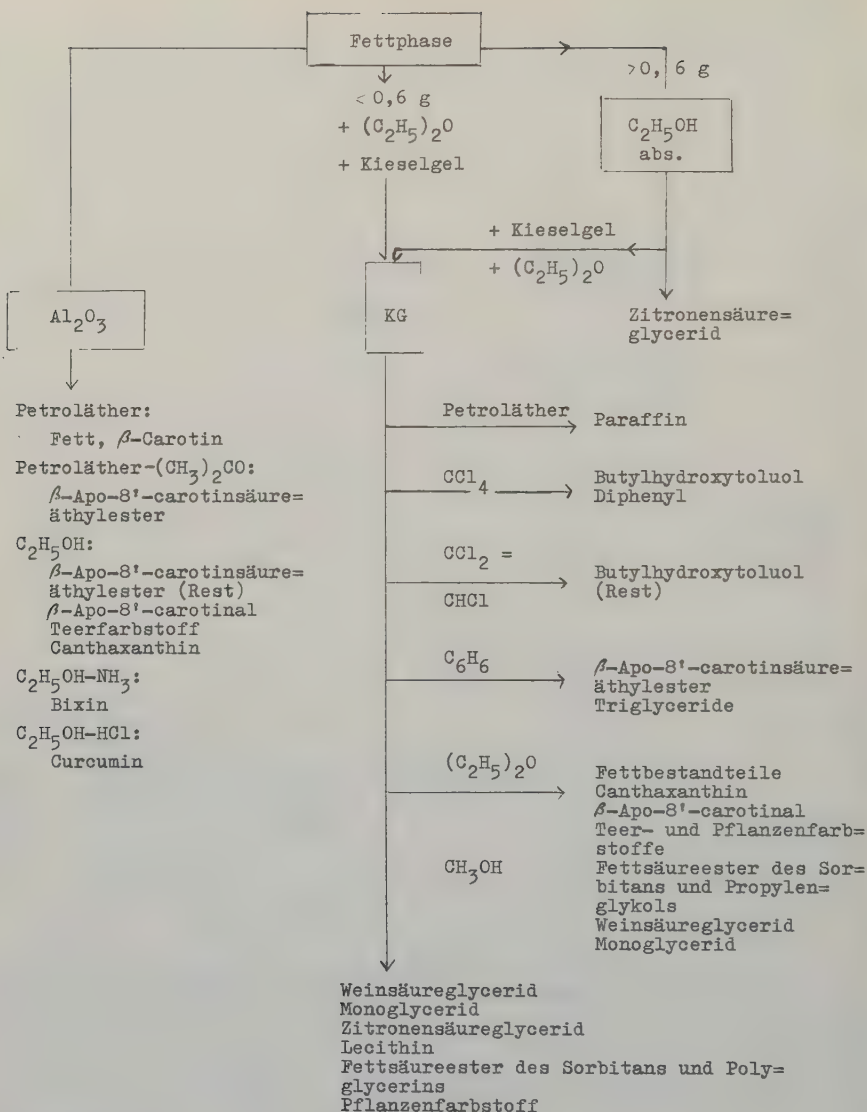
100 - 125 ml wäßrige Phase



SCHEMA 1a des Trennungsgangs: Aufarbeitung der wäßrigen Phase mit Ionenaustausch



SCHEMA 1b des Trennungsganges: Aufarbeitung des unlöslichen Rückstandes



Es bedeuten:

Al_2O_3 : Aluminiumoxidsäule

KG : Kieselgelsäule

SCHEMA 1c des Trennungsganges: Aufarbeitung der Fettphase

3.1 Aufarbeitung eines Lebensmittels in drei Phasen

3.1.1 Vorbereitung des Untersuchungsmaterials

Das Lebensmittel wird, sofern es nicht in flüssigem, breiartigem oder pulverisiertem Zustand vorliegt, in einem Mixgerät zerkleinert und eine Wassergehaltsbestimmung durchgeführt:

a) Pulverförmige Lebensmittel (5):

Etwa 5 g der Substanz werden in ein vorgetrocknetes Wägegläschen mit eingeschliffenem Deckel eingewogen und im Trockenschrank bei $100 - 110^{\circ}\text{C}$ bis zur Gewichtskonstanz getrocknet.

b) Breiartige Lebensmittel und Emulsionen (5):

Etwa 5 g der Substanz werden in eine vorgetrocknete, 30 - 40 g Seesand und einen am unteren Ende abgeplatteten Glasstab enthaltende Nickel- oder Porzellanschale eingewogen. Die Substanz wird mit dem Seesand vermischt und im Trockenschrank bei $100 - 110^{\circ}\text{C}$ oder bei vermindertem Druck bei 80°C bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Stark wasserhaltige Substanzen werden zuvor auf dem Wasserbad unter Umrühren vorgetrocknet.

c) Wäßrige Flüssigkeiten:

Die Wassergehaltsbestimmung wird indirekt durch refraktometrische oder pyknometrische Extraktbestimmung vorgenommen.

d) Fette:

Bei reinen Fetten, die im allgemeinen kein Wasser oder nur Spuren hiervon enthalten, erübrigt sich eine Wasserbestimmung. Bei Emulsionsfetten (Butter, Margarine) wird die Wasserbestimmung nach b durchgeführt.

3.1.2 Einwaage des Untersuchungsmaterials

50,0 g des Lebensmittels werden in einen 300 ml Erlenmeyerkolben eingewogen. Zu Lebensmitteln mit einem Wassergehalt unter 50 % wird soviel destilliertes Wasser gegeben, daß ein Wassergehalt von 25 g in der Probe entsteht. Zur Lösung etwa auskristallisierter Stoffe (z.B. Zucker, Salz) wird die Probe ausreichend mit dem Wasser vermischt und einige Zeit leicht geschüttelt oder stehen gelassen. Reine Lebensmittelzusätze mit hohem Salz- oder auch Milchzuckergehalt müssen zur Lösung der Stoffe gegebenenfalls erwärmt und mit mehr Wasser gelöst werden. Danach werden 0,5 ml 10 n Schwefelsäure zugefügt und nach gründlichem Vermischen mit der Probe die Reaktion mit Universal-Indikatorpapier geprüft. Sie muß deutlich sauer sein, anderenfalls mehr Schwefelsäure zugefügt werden muß. Fette werden erst nach Lösung angesäuert und mit Wasser versetzt (s. unter e).

3.1.3 Auftrennung des Untersuchungsmaterials in drei Phasen

Die weitere Aufbereitung richtet sich nach der Art des Lebensmittels:

- a) Fettfreie, zuckerarme Lebensmittel (z.B. Gurkenkonserven) werden mit soviel Aceton versetzt, wie der vierfachen Menge des vorhandenen Wassers - einschließlich des zugesetzten Wassers sowie der zum Ansäuern verwendeten wäßrigen Schwefelsäure - entspricht. Es muß ein Acetongehalt in der Probe von 80 Vol. %, bezogen auf die flüssige Phase, resultieren. Das Aceton wird in 5 - 10 ml Portionen zugesetzt, die vor erneuter Acetonzugabe jeweils gründlich mit der Probe vermischt werden. Ist eine Ausfällung von Quellstoffen oder Eiweißstoffen nicht notwendig, wie beispielsweise bei Gurkenkonserven, wird nur soviel Aceton zugegeben, wie der zweifachen Menge des vorhandenen Wassergehaltes entspricht, d.h. auf einen Acetongehalt von 67 Vol. % eingestellt. Auch bei der nachfolgenden Behandlung

wird als Waschflüssigkeit 67 Vol. % Aceton R 86 verwendet.

- b) Fettfreie, zuckerreiche Lebensmittel (Marmeladen, Obstkonserven, Obstsirupe, kandierte Früchte) werden anstatt mit Aceton mit Äthanol-Aceton-Mischung R 91 in gleicher Weise wie in a behandelt. Der Gehalt der organischen Lösungsmittel in der wäßrigen Phase soll 80 Vol. % betragen. Bei einem Gehalt von beispielsweise 25 g Wasser und 0,5 ml Schwefelsäure in der Probe werden 102 ml Äthanol-Aceton R 91 zugegeben.
- c) Fetthaltige, zuckerfreie und zuckerhaltige Lebensmittel (Zucker- gehalt im Wasser unter 25 %), z.B. Mayonnaisen und damit herge- stellte Salate, Fleisch- und Fischerzeugnisse, Speiseeis usw., werden mit soviel Petroläther-Aceton-Äthanol R 87 versetzt, wie einem Gehalt von 80 Vol. % organischen Lösungsmitteln (Aceton- Äthanol) in der wäßrigen Phase entspricht. Soll auf Ascorbyl- palmitat geprüft werden, wird Petroläther-Äthanol R 92 zugegeben. Bei einem Gehalt von beispielsweise 25 g Wasser und 0,5 ml Schwe- felsäure in der Probe sind 128 ml Petroläther-Aceton-Äthanol R 87 bzw. Petroläther-Äthanol R 92 erforderlich.
- d) Fetthaltige, zuckerreiche Lebensmittel (Zuckergehalt im Wasser über 25 %) z.B. Nugat und Kremfüllungen sowie Lebensmittel unbekannter Zusammensetzung werden entweder auf einen höheren Wassergehalt eingestellt als in Abschnitt 3.1.2 angegeben ist oder mit soviel Petroläther-Äthanol R 92 versetzt wie notwendig ist, um einen Ge- halt von 77 Vol. % Äthanol in der wäßrigen Phase zu erreichen. Im letzteren Fall werden bei einem Gehalt von beispielsweise 25 g Wasser und 0,5 ml Schwefelsäure in der Probe 108 ml Petroläther- Äthanol R 92 zugegeben.
- e) Fette werden in 50 ml Petroläther (Siedepunkt bis etwa 40°C) ge- löst, hierzu muß gelegentlich, z.B. bei Schweineschmalz, auf dem Wasserbad leicht erwärmt werden. Zu der Fettlösung werden 100 ml Aceton-Alkohol R 91, 0,5 ml 10 n Schwefelsäure und soviel Was- ser gegeben, daß 25 g Wasser in der Lösung vorhanden sind. Bei einer Einwaage von 50,0 g reinem Fett werden also 24,5 g Wasser

zugegeben. Soll auf Ascorbylpalmitat geprüft werden, wird die Petrolätherlösung statt mit Äthanol-Aceton R 91 mit 100 ml absolutem Äthanol versetzt.

Nach Zusatz der organischen Lösungs- bzw. Fällungsmittel, der in Anteilen und unter Umschwenken erfolgen soll, wird der Erlenmeyerkolben mit einem Glasstopfen verschlossen und zur Vervollständigung der Lösung bzw. Fällung ca. 12 Stunden stehengelassen. Während dieser Zeit wird der Inhalt einige Male kräftig durchgeschüttelt. Danach wird bei 3000 U/Min. 10 - 15 Min. zentrifugiert. Die weitere Verarbeitung unterscheidet sich bei Lebensmitteln nach a und b sowie solchen nach c, d und e.

Bei Lebensmitteln nach a und b wird die überstehende Lösung durch etwas Quarzwatte in einem ausreichend großen Trichter - der die gesamte überstehende Lösung aufnehmen kann, wodurch Verluste vermieden werden - in einen 200 ml, bei stark wasserhaltigen Lebensmitteln in einen 250 ml Meßkolben dekantiert. Der im Zentrifugenglas verbleibende Rückstand wird mit 25 ml, bei erheblichen Rückstandsmengen auch mit 50 ml Aceton R 93 (Lebensmittel nach a) bzw. Äthanol R 94 (Lebensmittel nach b), die zuvor zum Ausspülen des Erlenmeyerkolbens verwendet wurden, verrührt und bei 3000 U/Min. 10 Min. zentrifugiert. Die überstehende Lösung wird durch den Trichter in den Meßkolben gegeben. Das Auswaschen des Rückstandes wird in gleicher Weise solange fortgeführt, bis die Marke des Meßkolbens von den Waschlösungen nahezu erreicht wird. Der Kolbeninhalt wird nach Temperierung auf 20°C aufgefüllt, durchmischt und durch ein doppeltes Faltenfilter filtriert. Die Weiterverarbeitung der wäßrigen Phase erfolgt nach Abschnitt 3.2, die der unlöslichen Bestandteile, deren Gewicht nach dem Trocknen an der Luft, wobei gelegentlich umgerührt wird, durch Überführen in ein gewogenes Glas festgestellt wird, nach Abschnitt 3.4.

Fetthaltige Lebensmittel nach c und d weisen nach dem Zentrifugieren abgesetztes Fett auf. Der Petroläther ist ganz oder zum großen Teil verdunstet. Flüssige Fette werden mit der wäßrigen Phase durch einen

ausreichend großen Trichter, der mit etwas Quarzwatte beschickt ist, in einen 250 ml fassenden Scheidetrichter gegeben, feste Fette werden mit den unlöslichen Bestandteilen im Zentrifugenglas gelassen. Dem Inhalt des Scheidetrichters wird soviel Wasser zugefügt, daß ein Gehalt von 67 Vol. % Aceton und/oder Äthanol in der wäßrigen Phase resultiert. Dies ist, sofern auf 80 Vol. % Aceton/Äthanol eingestellt wurde, die gleiche Wassermenge, die die Probe nach dem Ansäuern und evtl. Wasserzusatz aufwies. Unter leichtem Schwenken des Scheidetrichterinhalt es wird das zugegebene Wasser mit der wäßrigen Phase vermischt und diese, nach kurzem Absetzenlassen, in einen 200 oder 250 ml fassenden Meßkolben abgelassen. Abgesetztes Fett bleibt im Scheidetrichter. Der im Zentrifugenglas befindliche Rückstand wird mit 25 ml, bei erheblichen Rückstandsmengen mit 50 ml wäßrigem Aceton-Alkohol R 95 (zuckerarme Lebensmittel) bzw. wäßrigem Alkohol R 94 (zuckerreiche Lebensmittel und Lebensmittel, die auf Ascorbylpalmitat geprüft werden), die zuvor zum Ausspülen des Erlenmeyerkolbens verwendet wurden, verrührt und bei 3000 U/Min. 10 Min. zentrifugiert. Danach wird die überstehende Lösung unter Abspülung des verwendeten Trichters in den Scheidetrichter gegeben. Das im Zentrifugenglas gebliebene Fett wird in 25 ml Petroläther (40°C), gegebenenfalls in der Wärme, gelöst und unter Nachspülen mit wenig Petroläther in den Scheidetrichter gegeben. Anschließend wird geschüttelt, nach Schichtentrennung 5, bei 50 ml Waschlösung R 94 bzw. R 95 10 ml Wasser zugegeben und der Inhalt des Scheidetrichters zur Vermischung der unteren wäßrigen Phase mit dem zugegebenen Wasser vorsichtig geschwenkt. Nach Schichtentrennung wird die untere Phase in den Meßkolben abgelassen. Das Auswaschen der Gefäße, des Rückstandes und der Petrolätherphase wird noch 1 - 2 mal mit je 25 ml wäßrigem Aceton-Alkohol R 95 bzw. Alkohol R 94 in gleicher Weise durchgeführt.

Wenn die Marke des Meßkolbens von den Waschlösungen nahezu erreicht wird, wird der Kolbeninhalt nach Temperierung auf 20°C aufgefüllt, durchmischt und unter Bedeckung mit einem Uhrglas durch ein doppeltes Faltenfilter filtriert. Dieses wird, wenn es lufttrocken geworden ist, zusammen mit der Petrolätherphase in einen Kolben ge-

geben, der Scheidetrichter mit etwas Diäthyläther ausgespült und dieser zu der Petrolätherlösung gegeben. Der im Zentrifugenglas befindliche unlösliche Rückstand wird unter leichtem Erwärmen mit Äther verrührt, kurz zentrifugiert und der Äther ebenfalls zu der Petroläther-Fettphase gegeben. Die vereinigten Lösungen sowie das Filter werden durch Zugabe von wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und danach in einen gewogenen Rundkolben filtriert. Im Vakuum-Rotationsverdampfer werden die Lösungsmittel abgezogen und das Gewicht der Fettphase festgestellt. Diese darf keine Wassertröpfchen aufweisen, anderenfalls muß durch Lösen des Fettes in Äther und Zugabe von Natriumsulfat erneut getrocknet werden. Die Weiterverarbeitung des Fettes erfolgt nach Abschnitt 3.3 und die der wäßrigen Phase nach Abschnitt 3.2.

Der unlösliche Rückstand wird nach der Ätherbehandlung im liegenden Zentrifugenglas an der Luft getrocknet. Durch gelegentliches Umrühren wird eine Verklumpung des Rückstandes vermieden, eiweißreiche Rückstände sollen im lufttrockenen Zustand pulverförmig sein. Anschließend wird der Rückstand quantitativ in ein gewogenes und verschließbares Glas überführt und das Gesamtgewicht der unlöslichen Bestandteile festgestellt. Die Weiterverarbeitung erfolgt nach Abschnitt 3.4.

Lebensmittel unbekannter Zusammensetzung, die sich als fetthaltig erweisen, werden wie Lebensmittel nach c oder d behandelt. Wird jedoch kein Fett festgestellt und weist auch der Ätherextrakt aus den unlöslichen Bestandteilen keinen fettartigen Rückstand auf, wird die Aufbereitung wie bei Lebensmitteln nach a und b weitergeführt.

Fette, die nach e behandelt wurden und einen unlöslichen Rückstand aufweisen, werden wie Lebensmittel nach c aufgearbeitet. Ist jedoch ein unlöslicher Rückstand nicht vorhanden, ist eine Zentrifugierung unnötig und der gesamte Inhalt des Erlenmeyerkolbens wird in den Scheidetrichter gegeben. Die weitere Aufbereitung (Zugabe von Wasser, Waschen der Gefäße und der Petrolätherschicht

usw.) entspricht der von Lebensmitteln nach c, die dort hinsichtlich des unlöslichen Rückstandes gemachten Angaben entfallen.

3.2 Aufarbeitung der wäßrigen Phase

Von der nach Abschnitt 3.1.3 erhaltenen wäßrigen Phase wird die Hälfte, also 100 bzw. 125 ml zur Trennung am Ionenaustauscher nach Abschnitt 3.2.2 verwendet. Der Rest wird nach Abschnitt 3.2.1 weiterverarbeitet.

3.2.1 Aufarbeitung ohne Ionenaustausch

Die hierfür eingesetzte Lösung eignet sich zum Nachweis folgender Stoffe:

Formaldehyd, nach Abschnitt 1.2.3.1

Wasserlösliche Teerfarbstoffe, nach Abschnitt 1.2.2.1.1

Riboflavin, nach Abschnitt 1.2.2.2

Antioxydantien (Gallussäureester, Nordihydroguajaretsäure, Butylhydroxyanisol, Ascorbylpalmitat), nach Abschnitten 1.2.1.1 und 1.2.1.2

Fettlösliche Teerfarbstoffe, nach Abschnitt 1.1.5.3

Curcumin und Bixin, nach Abschnitt 1.1.5.1

Weinsäureglycerid (Vorprobe), nach Abschnitt 1.1.2.1

Zuerst wird die Prüfung auf Formaldehyd vorgenommen. Anschließend wird die Lösung mit der gleichen Menge Wasser verdünnt und mit 150 ml Äther ausgeschüttelt. Nach Schichtentrennung wird die wäßrige Phase im Vakuumrotationsverdampfer von organischen Lösungsmitteln befreit und mit der im Scheidetrichter verbliebenen Ätherphase erneut ausgeschüttelt. Die wäßrige Phase wird, sofern sie eine Färbung aufweist, nach erneuter Entfernung der im Wasser gegebenenfalls noch gelösten organischen Lösungsmittel auf wasserlösliche Teerfarbstoffe und Riboflavin geprüft. Aus der Ätherphase wird nach dem Trocknen mit wasserfreiem Natriumsulfat der Äther im Luftstrom abgedunstet und der Rückstand zunächst auf Anti=

oxydantien nach Abschnitt 1.2.1.1 geprüft. Der Nachweis kann durch Gegenwart von Emulgatoren beeinträchtigt werden. Durch Lösen des Rückstandes in 10 ml Äthanol und Zugabe von 5 ml Wasser werden die Emulgatoren in der Kälte weitgehend ausgefällt, während die Antioxydantien in Lösung bleiben und im Filtrat, gegebenenfalls nach Extraktion mit Äther, nachgewiesen werden können. Bei entsprechender Färbung wird der Nachweis auf fettlösliche Teerfarbstoffe, Curcumin und Bixin vorgenommen und bei Vorliegen eines fett- bis salbenartigen Rückstandes eine Vorprobe auf Weinsäureglycerid. Danach wird der gesamte Rückstand zur Prüfung auf Ascorbylpalmitat verwendet.

3.2.2 Aufarbeitung mit Ionenaustausch

Hierzu werden mit 250 ml fassenden Scheidetrichtern verbundene Glassäulen von etwa 30 cm Länge und 1 cm Durchmesser verwendet, die bei 10 cm eine Marke haben. Glassäulen und Scheidetrichter sind mit Teflonhähnen ausgestattet (Abbildung 2). Zur Füllung

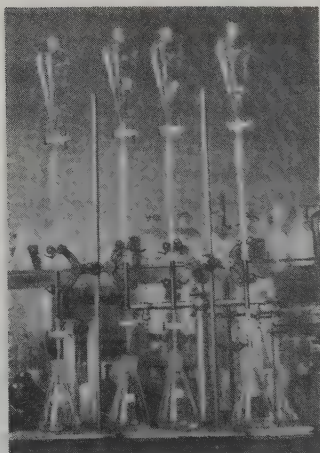


Abbildung 2

wird eine Glassäule unten mit etwas Quarzwatte abgedichtet, etwa zur Hälfte mit Wasser gefüllt und die Austauschersuspension aus einer Messpipette mit weiter Ausflußöffnung bis zu einer Höhe von 10 cm in die Säule getropft. Das Wasser wird bis zur Oberfläche der Austauschersäule abgelassen und die Säule mit 20 - 30 ml wässrigem Aceton R 86 nachgewaschen, das bis auf wenige mm Höhe über dem Austauscher abgelassen wird. Die Glassäule wird nun mit dem Scheidetrichter verbunden und die Vorrichtung ist zur Aufnahme der Analysenflüssigkeit bereit.

3.2.2.1 Abtrennung der Kationen

Die zur Trennung am Ionenaustauscher bestimmte Analysenflüssigkeit wird in den Scheidetrichter gegeben und von dort aus mit einer Geschwindigkeit von etwa 15 Tropfen/Min. in die Glassäule getropft, die bis zu 10 cm Höhe mit gereinigtem Kationenaustauscher (H-Form) R 96 gefüllt ist. Bei stark gesalzenen Lebensmitteln, z.B. manchen Fischerzeugnissen, muß die Austauschersäule zum vollständigen Austausch der Kationen mindestens 15 cm hoch sein. Bei den wäßrigen Phasen von Lebensmitteln nach Abschnitt 3.1.3c, d und e, die 67 Vol. % organische Lösungsmittel enthalten, wird die Analysenlösung ohne weiteren Wasserzusatz durch die Austauschersäule gegeben. Die wäßrige Phase von Lebensmitteln nach Abschnitt 3.1.3a und b wird, soweit sie noch 80 Vol. % organische Lösungsmittel enthält, zuvor durch Wasserzusatz auf einen Gehalt von 67 Vol. % organische Lösungsmittel eingestellt. Wurden beispielsweise 100 ml der auf 200 ml aufgefüllten wäßrigen Phase eines fettfreien Lebensmittels in den Scheidetrichter pipettiert, werden diese mit 20 ml Wasser vermischt und dann erst durch den Austauscher gegeben.

Nach Durchlauf der abgemessenen Lösungsmenge werden Scheidetrichter und Austauschersäule mit 10 ml Aceton R 86 gespült, die zu der bereits durchgelaufenen Lösung gegeben werden. Diese Lösung wird nun mit 2 ml, Analysenflüssigkeiten aus stark sauren oder gesalzenen Lebensmitteln aber mit 5 - 8 ml gereinigtem Anionenaustauscher (CO_3 -Form) R 97 versetzt, der Kolben mit einem Glasstopfen verschlossen und die Lösung nach Abschnitt 3.2.2.2 weiterbehandelt.

Scheidetrichter und Kationenaustauscher werden noch zweimal mit jeweils 25 ml Aceton R 86 gewaschen, die Waschlösungen werden in einem 50 ml Kölbchen aufgefangen und als erste Waschlösung nach Abschnitt 3.2.2.2 verwendet. Bei zuckerreichen Lebensmitteln ist gegebenenfalls noch ein Nachwaschen mit Wasser erforderlich. Es wird mit jeweils 5 ml Wasser solange gewaschen, bis das abtropfende, acetonfreie Wasser im Refraktometer keinen meßbaren Ex=

traktgehalt mehr aufweist. Diese Waschlösung wird mit der doppelten Menge Aceton versetzt und als zweite Waschlösung nach Abschnitt 3.2.2.2 verwendet.

Zur Elution der Kationen wird der Kationenaustauscher mit 200 ml 0,5 m Natriumchloridlösung R 89 behandelt. Das Eluat wird im Vakuumrotationsverdampfer zur Trockene gebracht und der Rückstand in 10 ml Wasser aufgenommen. In dieser Lösung sind folgende Stoffe zu erwarten:

Ammoniak, nach Abschnitt 1.2.4.1.1

Glutaminsäure und auch andere Aminosäuren, nach Abschnitt 1.2.4.4

Chinin, nach Abschnitt 1.2.4.3

Cholin, nach Abschnitt 1.2.4.2

3.2.2.2 Abtrennung der Anionen

Zur Neutralisation der durch den Kationenaustauscher durchgelaufenen Analysenflüssigkeit werden 2 - 15 ml, gegebenenfalls auch mehr, Anionenaustauscher-Suspension verbraucht. In der nach Abschnitt 3.2.2.1 mit Anionenaustauscher versetzten Analysenlösung wird daher nach einigen Stunden oder nach 30 min. horizontalem Schütteln des Gefäßes die Reaktion mit Universal-Indikatorpapier geprüft. Bei neutraler Reaktion kann die Adsorption der Anionen auf der Säule vervollständigt werden. Im anderen Fall werden nochmals 2 ml Anionenaustauschersuspension zugegeben, 30 Min. geschüttelt und dies solange wiederholt, bis eine CO_2 -Entwicklung mit zugesetztem Austauscher nicht mehr eintritt bzw. die Lösung eine neutrale Reaktion zeigt. Die bis zur Neutralisation verbrauchten ml Austauscher-Suspension werden vermerkt. Zur Vervollständigung der Adsorption der Anionen wird die Analysenlösung in den in Abschnitt 3.2.2 beschriebenen Scheidetrichter gegeben und von dort mit einer Geschwindigkeit von 6 - 8 Tropfen/Min. durch eine 10 cm hohe Säule aus gereinigtem Anionenaustauscher, CO_3 -Form, R 97 gegeben. Der zur Neutralisation verbrauchte Anionenaustauscher wird in dem Erlenmeyerkolben zurückgehalten.

In der Säule soll eine CO_2 -Entwicklung nicht mehr oder nur noch vereinzelt auftreten. Wird eine deutliche Gasentwicklung beobachtet, wurde nicht ausreichend neutralisiert und die Neutralisation muß im Kolben vervollständigt werden. Bei Gegenwart von Glukon-säuredeltalacton wird allerdings auch nach der Neutralisation eine ständige Gasentwicklung beobachtet. Von Zeit zu Zeit wird, falls an der Glaswandung innerhalb der Austauschersäule Gasblasen sichtbar werden, der Hahn geschlossen und die Austauschermasse zur Entfernung der Blasen mit Hilfe eines langen, dünnen Glasstabes vorsichtig gerührt. Bei ausreichend neutralen Lösungen und langsamer Tropfeinstellung kann diese Adsorption auch über Nacht erfolgen. Der Anionenaustauscherdurchlauf wird in einem 400 ml großen Becherglas aufgefangen und dient einschließlich der verwendeten Waschlösungen nach Abschnitt 3.2.2.3 zum Nachweis der Neutralstoffe.

Nach Durchfluß der Analysenlösung werden Erlenmeyerkolben, Scheidetrichter und Austauschersäule zunächst mit der nach Abschnitt 3.2.2.1 getrennt aufgefangenen ersten Waschlösung gewaschen und danach gegebenenfalls mit der zweiten Waschlösung bzw. mit 50 ml wäbrigem Aceton R 86. Die Durchflußgeschwindigkeit kann nun etwas gesteigert werden, soll aber auch gegen Ende nicht mehr als 30 Tropfen/Min. betragen. Bei zuckerreichen Lebensmitteln wird im Anschluß daran mit 5 ml Portionen CO_2 -gesättigten Wassers solange nachgewaschen, bis das abtropfende, acetonfreie Wasser im Refraktometer keinen meßbaren Extraktgehalt mehr aufweist (10 - 25 ml).

Danach erfolgt die Elution der Anionen mit schwefelsaurem Aceton R 90. Das Eluat wird in einem 500 ml großen Rundkolben aufgefangen. Es werden zunächst 50 ml der Elutionslösung auf den im Erlenmeyerkolben befindlichen Austauscher gegeben und dieser einige Minuten hiermit leicht geschwenkt. Der Scheidetrichter wird von der Säule entfernt und die überstehende Lösung durch einen kleinen Trichter auf die Austauschersäule gegeben. Die Glassäule soll aber nicht mehr als etwa zur Hälfte gefüllt werden, um ein Übersäumen während der nun einsetzenden Gasentwicklung zu vermeiden.

Bereits zu Beginn der Gasentwicklung wird ein langer, dünner Glasstab in die Säule gegeben und das Entweichen der Gasblasen durch gelegentliches Umrühren der Austauschermasse erleichtert. Die Durchflußgeschwindigkeit soll etwa 30 Tropfen/Min. betragen. Wenn die ersten 50 ml durchgelaufen sind und auch nach gründlichem Durchmischen des in der Säule befindlichen Austauschers keine Gasblasen mehr auftreten, werden weitere 50 ml der Eluierungslösung, mit denen zuvor der im Kolben befindliche Austauscher in gleicher Weise wie oben beschrieben behandelt wurde, durch die Säule gegeben. Die Ablösung der nachzuweisenden Anionen ist vollständig, wenn das abtropfende Eluat stark sauer und der Sulfatnachweis deutlich positiv ist. Wurden mehr als 2 ml Austauscher zur Neutralisation verbraucht, werden für jeden ml Austauscher mehr zusätzlich 5 ml des Eluierungsmittels zur Spülung verwendet. Nachgewaschen wird mit 100 ml wäßriger Acetonlösung R 86. Danach wird das Eluat mit 6 n Natronlauge alkalisiert, bis zur klaren Lösung mit Wasser versetzt und das Aceton daraus im Vakuumrotationsverdampfer abgezogen. Die in dieser Analysenflüssigkeit enthaltenen Säuren werden zum Teil aus wäßriger Lösung mit Äther extrahiert, zum Teil aber nach weitgehender Entfernung des Wassers in Äther oder Alkohol überführt.

a) Extraktion aus wäßriger Lösung

Hierzu wird die Analysenflüssigkeit unter Nachspülen mit Wasser in einen Scheidetrichter überführt, mit 25 proz. Schwefelsäure angesäuert und zweimal mit je 60 ml peroxidfreiem Äther ausgeschüttelt. Jeder Ätherextrakt wird mit 50 ml Wasser gewaschen. Diese 50 ml Wasser werden nach dem Waschen des zweiten Ätherextraktes zu der extrahierten wäßrigen Phase gegeben, die nach Alkalisierung mit 6 n Natronlauge im Vakuumrotationsverdampfer zur Trockene gebracht und weiter nach b behandelt wird.

Die Ätherextrakte werden mit Natriumsulfat getrocknet und unter Nachwaschen mit Äther in einen 100 ml Meßkolben filtriert, wo sie nach Temperierung bei 20°C auf 100 ml aufgefüllt werden.

Diese Ätherlösung eignet sich zum Nachweis folgender Stoffe:

Benzoessäure, Sorbinsäure, p-Chlorbenzoessäure, p-Hydroxybenzoessäure und Salicylsäure nach Abschnitt 1.2.5.1.1

Saccharin, das auch geschmacklich erkannt werden kann, nach Abschnitt 1.2.5.4.1

Vanillin und Äthylvanillin, die zum Teil hier auftreten können, nach Abschnitt 1.2.6.3.1

Zum Nachweis dieser Stoffe werden 70 ml der Ätherlösung im Luftstrom eingedunstet. Wird die Gegenwart von Benzoessäure und/oder Sorbinsäure nachgewiesen, kann die restliche Ätherlösung zur quantitativen Bestimmung dieser Stoffe nach Abschnitt 1.2.5.1.2 verwendet werden. Bei Sorbinsäure muß ein eventuell im zweiten Ätherextrakt nach b vorhandener Restgehalt mitberücksichtigt werden.

b) Extraktion des Trockenrückstandes mit Äther

Der nach a erhaltene Trockenrückstand wird mit 50 ml peroxidfreiem Äther versetzt und unter Verrühren und Zerdrücken der Kristallmasse mit einem unten abgeplatteten Glasstab mit 25 proz. Schwefelsäure deutlich angesäuert. Zur Freisetzung der Säuren und möglichst weitgehenden Aufnahme dieser Stoffe in den Äther wird dieser durch kurzes Erwärmen des Kolbens auf dem Wasserbad zum Sieden gebracht, wobei wäßrige Phase und Ätherphase miteinander vermischt werden. Die Reaktion der wäßrigen Phase muß danach noch deutlich sauer sein. Durch Zugabe von wasserfreiem Natriumsulfat bis zur fest-kristallinen Konsistenz der Salzmasse wird die wäßrige Phase weitgehend entfernt. Die Ätherphase wird durch ein Natriumsulfat haltendes Filter in einen 100 ml Meßkolben gegeben und mit Äther zur Marke aufgefüllt, der zuvor zum Auswaschen der Natriumsulfatmasse, die nach c weiterbehandelt wird, verwendet worden war. Dieser zweite Ätherextrakt eignet sich zum Nachweis folgender Stoffe:

Niedere Fettsäuren (10 - 30), nach Abschnitt 1.2.5.2

Hydroxycarbonsäuren und Cyclohexylsulfaminsäure nach Abschnitt 1.2.5.3.1a.

Für den Nachweis der niederen Fettsäuren werden 10 ml der Ätherlösung verwendet, während für den Nachweis der organischen Hydroxycarbonsäuren und des Natriumcyclamats 25 ml der Ätherlösung im Luftstrom eingedunstet werden. Zum Nachweis der Ameisensäure nach Abschnitt 1.2.5.2.2 werden 50 ml Ätherlösung benötigt. Bei deutlich nachweisbarem Ameisensäuregehalt muß außerdem eine zweite Ameisensäurebestimmung in 10 ml des ersten, nach a erhaltenen Ätherextraktes durchgeführt werden.

c) Extraktion des Trockenrückstandes mit Äthanol

Die nach Abschnitt b nach der Ätherextraktion zurückbleibende Kristallmasse wird nach dem Abdunsten des anhaftenden Äthers in der Wärme mit 50 ml Äthanol von 96 Vol. % behandelt. Danach wird der Alkohol abfiltriert, mit 6 n Natronlauge alkalisiert und im Vakuumrotationsverdampfer zur Trockene gebracht. Der Rückstand wird mit 20 ml Wasser aufgenommen und diese Lösung auf folgende Stoffe geprüft:

Glukonsäure, nach Abschnitt 1.2.5.3.1

Chlorid, Nitrat, Phosphat, nach Abschnitt 1.2.5.5.

Bei positivem Phosphatnachweis kann die Art des im Lebensmittel vorhandenen Phosphats nur durch direkte Prüfung in dem Lebensmittel festgestellt werden.

3.2.2.3 Neutralstoffe

Die nach Adsorption der Anionen nach Abschnitt 3.2.2.2 anfallende Analysenlösung wird zum Nachweis der ätherlöslichen Neutralstoffe

im Scheidetrichter mit der halben bis gleichen Menge Wasser versetzt und mit 150 ml Äther ausgeschüttelt. Nach Schichten-trennung, die häufig erst nach längerer Zeit erfolgt, wird die wäßrige Phase im Vakuumrotationsverdampfer weitgehend von den organischen Lösungsmitteln befreit. Meist ist jedoch wegen des Schäumens der Analysenflüssigkeit eine Einengung nur auf dem Wasserbad möglich. Die wäßrige Lösung wird danach nochmals mit der im Scheidetrichter verbliebenen Ätherphase ausgeschüttelt. Nach Abtrennung der wäßrigen Phase wird die Ätherphase mit 50 ml Wasser gewaschen, das zu der wäßrigen Lösung gegeben wird. Die wäßrige Analysenlösung wird im Vakuumrotationsverdampfer, notfalls aber auch auf dem Wasserbad von noch vorhandenen or-ganischen Lösungsmittelresten befreit und nach Auffüllung auf ein bestimmtes Gewicht entsprechend Abschnitt 1.2.6.6.2a pykno-metrisch oder refraktometrisch der darin vorhandene Extraktge-halt festgestellt. Anschließend wird auf die hier zu erwartenden Stoffe geprüft:

Zucker, nach Abschnitt 1.2.6.6.1

Glykole, Glycerin und Zuckeralkohole, nach Abschnitt 1.2.6.7.1a

Glykole und Glycerin auch nach Abschnitt 1.2.6.7.1b und c

Nach Durchführung dieser Prüfungen wird die wäßrige Lösung unter Nachspülen mit Wasser und Aceton erneut in das vorher zur Einengung verwendete Gefäß zurückgegeben und die wäßrige Lösung zur Trockene gebracht. Der Trockenrückstand wird in der Wärme mit Aceton verrieben, das Aceton abfiltriert und einge-dunstet. Der Rückstand wird auf die hier zu erwartenden Stoffe geprüft:

Dulcin, nach Abschnitt 1.2.6.4

Polyoxyäthylen-Sorbitanfettsäureester, nach Abschnitt 1.2.6.5.1b und 1.2.6.5.2a - c

Thioharnstoff nach Abschnitt 1.2.6.2.1a

Der acetonunlösliche Rückstand kann bei Lebensmitteln, deren wäßrige Phase nicht ausschließlich mit Wasser-Aceton hergestellt

wurde, Methylcellulose und geringe Mengen Dextrin enthalten. Der Rückstand wird daher nach Lösen in Wasser mit Aceton in der vierfachen Menge des verwendeten Wassers versetzt und weiter nach Abschnitt 3.4.2.1 verarbeitet.

Die Ätherphase wird über Natriumsulfat getrocknet, durch ein Natriumsulfat enthaltendes Filter filtriert und im Abzug eingedunstet. Wird mit der Gegenwart von Diphenyl gerechnet, wird ein völliges Trockenwerden vermieden. Der in wenig Äther gelöste Rückstand - bei Gegenwart von Monoglycerid müssen einige Tropfen Chloroform zugegeben werden - wird auf die hier zu erwartenden Stoffe geprüft:

Diphenyl, Diphenylamin, o-Phenylphenol und Butylhydroxyanisol, nach Abschnitt 1.2.6.2.1a, Butylhydroxyanisol auch nach Abschnitt 1.2.1

Ester der p-Hydroxybenzoesäure, nach Abschnitt 1.2.5.1.1

Äthylvanillin und Vanillin, nach Abschnitt 1.2.6.3.1

Lecithin, Monoglycerid, Fettsäureester des Polyglycerins, Sorbitans und Propylenglykols, die sich durch fett- bis salbenartige Rückstände zu erkennen geben, nach Abschnitt 1.2.6.5

3.3 Aufarbeitung der Fettphase

3.3.1 Vorbehandlung des Fettes

Das nach Abschnitt 3.1.3 erhaltene und gewogene Fett wird der Menge entsprechend wie folgt behandelt:

- a) Bei Fettmengen von 26 g und mehr werden 25 g des Fettes abgewogen und mit 50 ml absolutem Äthanol versetzt.
- b) Zu Fettmengen von 6 bis 25 g werden pro Gramm Fett 2 ml absolutes Äthanol gegeben.
- c) Fettmengen über 0,6 bis 5 g werden mit 10 ml absolutem Äthanol versetzt.

- d) Fettmengen bis 0,6 g werden in wenig Äther gelöst, 3 g Kieselgel Woelm, zur Adsorptionschromatographie, zugegeben, bis zur Verdampfung des Äthers geschwenkt und in ätherfreiem Zustand auf der Kieselgelsäule nach Abschnitt 3.3.2 fraktioniert.
- e) Wurde bei Aufarbeitung des Untersuchungsmaterials nach Abschnitt 3.1.3 d keine in Petroläther lösliche Fettphase erhalten, aber bei der Extraktion des unlöslichen Rückstandes und/oder bei Filtration der wäßrigen Phase ein fettartiger Rückstand erhalten, sind natürliche Fette abwesend und in Petroläther unlösliche Emulgatoren vorhanden. Von derartigen Rückständen werden 0,6 g in Äther oder Chloroform gelöst und wie d weiterbehandelt, d.h. mit 3 g Kieselgel versetzt und nach dem völligen Trocknen fraktioniert.

Das nach a - c mit Alkohol versetzte Fett wird durch leichtes Schwenken des Kolbens in Wasser von 80 - 90°C klar gelöst und die alkoholische Fettlösung in einen Scheidetrichter gegeben, der sich in einem auf 60°C erwärmten Trockenschrank befindet. Der Scheidetrichter wird bei dieser Temperatur gelassen, bis nach etwa 30 Min. eine klare Schichtentrennung in eine untere Fettschicht und eine obere Alkoholphase eingetreten ist. Das Fett wird noch in der Wärme abgelassen. Bei der Abkühlung auf Zimmertemperatur scheidet sich weiteres Fett aus der Alkoholphase ab, das von dieser gleichfalls getrennt wird. Bei flüssigen Fetten kann hierbei ausfallendes Zitronensäureglycerid aus Öl- und Alkoholphase durch Glaswatte abfiltriert und nach Abschnitt 1.1.2 nachgewiesen werden. Fettphasen, die überwiegend aus Milch- oder Kokosfett bestehen, zeigen erst unterhalb 50 bzw. 30°C eine Trennung in Fett- und Alkoholphase.

Die Alkoholphase von Fettmengen nach c wird in einem 100 - 200 ml fassenden Kolben mit 3 g Kieselgel Woelm, zur Ad=

sorptionschromatographie, versetzt und der Alkohol am Rotationsverdampfer bis zur breiartigen Konsistenz der Kieselgel-Alkoholmasse abgezogen. Der restliche Alkohol wird bei liegendem Kolben an der Luft in etwa 12 Stunden abgedunstet. Zur Lösung und besseren Verteilung des abgesetzten Fettes wird zuvor etwas Äther zugegeben und der Kolben anfangs gelegentlich geschwenkt. Das alkoholfreie Kieselgel muß danach eine pulvrige Beschaffenheit haben. Sind mehr als 0,6 g Fett oder Emulgator in der Kieselgelmasse vorhanden, zeigt diese fettartige Verklebungen und die in Abschnitt 3.3.2 beschriebene Kieselgelsäule ist zur Fraktionierung der Fettbestandteile nicht mehr ausreichend.

Die Alkoholphasen von Fettmengen nach a und b werden vor Zugabe des Kieselgels im Vakuumrotationsverdampfer auf etwa 10 ml eingeengt, hierbei ausgefallene Fettbestandteile durch Erwärmen in Lösung gebracht und die weitere Trennung und Aufbereitung nunmehr wie bei Fettmengen nach c vorgenommen.

Besteht die Fettphase überwiegend aus Kokos- oder MilCHFett, werden anstatt 10 ml nur 4 bzw. 7 ml der Alkoholphase zur Fraktionierung an der Kieselgelsäule verwendet.

3.3.2 Auftrennung an der Kieselgelsäule

Hierzu wird eine gleichartige Vorrichtung, wie in Abschnitt 3.2.2 beschrieben, verwendet mit dem Unterschied, daß der Durchmesser der Glassäule 1,3 cm beträgt. Zur Chromatographie werden in die unten mit Quarzwatte abgedichtete Glassäule 10 g Kieselgel Woelm, Aktivitätsstufe I, zur Adsorptionschromatographie, trocken eingefüllt, durch Klopfen der Glassäule größere Hohlräume entfernt und anschließend das die Fettbestandteile enthaltende Kieselgel eingeschüttet. Die Säule wird zunächst mit Petroläther, der zuvor zum Ausspülen des Verdampfungskolbens verwendet wurde, mit einer Geschwindigkeit von etwa 60 Tropfen/Min. bis zu einer Eluatmenge von 100 ml behandelt. Anfangs entstehende Luftblasen werden nur aus der zum Aufziehen der Fettbestandteile verwendeten Kieselgelschicht gerührt. Danach wird die

Vorlage gewechselt und die Säule in gleicher Weise mit je 100 ml Tetrachlorkohlenstoff und den nachfolgend verwendeten Eluierungsmitteln behandelt. Ein Wechsel des Eluierungsmittels und der Vorlage erfolgt erst nach völligem Einziehen des vorhergehenden Eluierungsmittels in die Adsorptionsschicht. Die Reihenfolge der Eluierungsmittel und die Stoffe, mit denen in den einzelnen Fraktionen zu rechnen ist, zeigt Tabelle 65.

Eluierungsmittel	Eluierte Stoffe
Petroläther (Siedepunkt bis etwa 40°C)	Paraffin
Tetrachlorkohlenstoff	Butylhydroxytoluol
Trichloräthylen	(restliches Butylhydroxytoluol)
Benzol	Triglyceride β -Apo-8'-carotinsäureäthylester
Äther	Fettbestandteile Canthaxanthin β -Apo-8'-carotinal Teer- und Pflanzenfarbstoffe Fettsäureester des Sorbitans und Propylenglykols Weinsäureglyceride Monoglyceride
Methanol (60°C)	Zitronensäureglyceride Weinsäureglyceride Monoglyceride Lecithine Fettsäureester des Sorbitans und Polyglycerins Pflanzenfarbstoffe

Tabelle 65: Fraktionierung lipophiler Stoffe an der Kieselgelsäule

Säule ($\emptyset$ 1,3 cm): Kieselgel Woelm, Aktivitätsstufe I, zur Adsorptionsschichtchromatographie (10 g + 3 g)

Eluatmenge : jeweils 100 ml

Die eluierten Stoffe werden nach Abziehen der Eluierungsmittel am Vakuum-Rotationsverdampfer erkannt bzw. nachgewiesen. Wegen der Flüchtigkeit des Butylhydroxytoluols wird das Tetrachlorkohlenstoffeluat nur bis auf 2 - 3 ml im Vakuum eingeengt. Der Rest des Lösungsmittels wird bei liegendem Kolben an der Luft abgedunstet und der Rückstand in wenigen Tropfen Petroläther aufgenommen. Der Nachweis der einzelnen Stoffe wird wie folgt durchgeführt:

Flüssiges Paraffin wird als solches erkannt und gegebenenfalls gewogen. Bei der Verseifungsprobe nach Abschnitt 1.1.3 bleibt Paraffin unverändert.

Butylhydroxytoluol, nach Abschnitt 1.1.4.1

Triglyceride, nach Abschnitt 1.1.1.1.1 und 1.1.1.1.2

Canthaxanthin, β -Apo-8'-carotinal, β -Apo-8'-carotinsäureäthylester und Pflanzenfarbstoffe, nach Abschnitten 1.1.5.1 und 1.1.5.2

Teerfarbstoffe, nach Abschnitt 1.1.5.3

Monoglyceride, acetylierte Weinsäureglyceride, Zitronensäureglyceride, Lecithine und Fettsäureester des Sorbitans, Polyglycerins und Propylenglykols, nach Abschnitten 1.1.2 und 1.2.6.5

Die nichtionogenen Emulgatoren sind in der Ätherfraktion neben dort noch reichlich vorhandenen Fettbestandteilen in manchen Fällen kaum nachweisbar und daher am sichersten in der wäßrigen Phase nach Abschnitt 3.2.2.3 zu analysieren. Der Nachweis von Zitronensäureglycerid und Weinsäureglycerid muß im Äther- bzw. Methanoleluat der Kieselgelsäule geführt werden.

3.3.3 Auftrennung von Farbstoffen an der Aluminiumoxidsäule

Es werden die zur Auftrennung an der Kieselgelsäule nicht verwendeten Fettmengen nach Abschnitt 3.3.1a oder, bei Fettmengen nach Abschnitt 3.3.1b bis d, das mit Alkohol extrahierte Fett bzw. die gefärbten Benzol- und Ätherfraktionen nach Abschluß der in Abschnitt 3.3.2 genannten Analysen verwendet. Diese Fettreste

werden im Vakuum von noch vorhandenen Lösungsmitteln befreit, in wenig Petroläther (Siedepunkt bis etwa 40°C) gelöst und die Petrolätherlösung an einer Säule von aktiviertem Aluminiumoxid R 98 fraktioniert (29). Hierzu werden die in Abschnitt 3.2.2 beschriebenen Glassäulen verwendet in die, nach Abdichtung mit Quarzwatte und Füllung mit Petroläther, das aktivierte Aluminiumoxid bis zu einer Höhe von 10 cm luftblasenfrei eingefüllt wird. Der Petroläther wird bis zur Oberfläche der Aluminiumoxidschicht abgelassen, die Petroläther-Fettlösung eingefüllt und nach dem Einziehen dieser Lösung die Säule zur Eluierung der Farbstoffe mit den in Tabelle 66 aufgeführten Eluierungsmitteln behandelt, mit denen die in dieser Tabelle genannten Stoffe eluiert werden.

Eluierungsmittel	Eluatmenge	Eluierter Stoff
Petroläther (Siedepunkt bis etwa 40°C)	25 ml	Fett, β -Carotin
Petroläther-Aceton R 99	50 ml	β -Apo-8'-carotinsäureäthylester
Äthanol (96 Vol. %)	10 - 20 ml	β -Apo-8'-carotinsäureäthylester (Rest) β -Apo-8'-carotinal Canthaxanthin Teerfarbstoffe
Äthanol-Ammoniaklösung R 100	10 - 15 ml	Bixin
Äthanol (96 Vol. %)	10 ml	-
Äthanol-Salzsäure R 101	15 - 20 ml	Curcumin

Tabelle 66: Fraktionierung von Farbstoffen an der Aluminiumoxidsäule

Säule: Aluminiumoxid R 98, 10 cm Länge, 1 cm Durchmesser

3.4 Aufarbeitung des unlöslichen Rückstandes

3.4.1 Quantitative Bestimmungen

3.4.1.1 Milcheiweiß

In dem nach Abschnitt 3.1.3 erhaltenen, lufttrockenen und gewogenen Rückstand wird nach Abschnitt 1.3.2.1 der Milcheiweißgehalt festgestellt.

3.4.1.2 Talkum auf Reis

Der nach Abschnitt 3.5.2 erhaltene Rückstand wird mit 10 - 20 ml 8% Natronlauge in ein Becherglas überführt, eine Minute gekocht, danach mit 150 - 200 ml Wasser in das Zentrifugenglas zurückgebracht und bei 3000 U/Min. 10 Min. zentrifugiert. Nach dem Waschen des Rückstandes mit etwa 200 ml Wasser und nochmaligem Zentrifugieren wird dieser mit 20 ml 10% Salzsäure in der Wärme behandelt, zentrifugiert und nochmals mit etwa 200 ml Wasser gewaschen. Nach dem Zentrifugieren wird der Rückstand mit wenig Wasser quantitativ in einen gewogenen Platintiegel überführt, zur Trockene gebracht und bei etwa 550°C verascht und nach dem Abkühlen gewogen. Der Nachweis des Talkums erfolgt nach Abschnitt 1.3.4.3.1.

3.4.2 Aufarbeitung zu qualitativen Nachweisreaktionen

Der zuvor zur Milcheiweißbestimmung nach Abschnitt 3.4.1.1 verwendete unlösliche Rückstand wird der Menge entsprechend mit 5 - 50 ml Wasser versetzt und unter Umrühren aufgekocht. Wasserlösliche Bestandteile werden nach Abschnitt 3.4.2.1, wasserunlösliche Bestandteile nach Abschnitt 3.4.2.2 weiterbehandelt.

3.4.2.1 Wasserlösliche Bestandteile

Löst sich der gesamte Rückstand, so wird ohne weitere Aufbereitung nach Abschnitt 1.3.2.2 auf Gelatine und nach Abschnitt 1.3.3.1 auf Kohlenhydratquellstoffe geprüft. Zur Hydrolyse der Quellstoffe wird die wäßrige Lösung durch Zugabe von 1 n Schwefel-

säure auf 0,1 n Schwefelsäure eingestellt. Zur Elektrophorese der Quellstoffe nach Abschnitt 1.3.3.2 müssen diese nach Ansäuern mit Schwefelsäure durch die vierfache Volumenmenge Alkohol-Aceton R 91 erneut ausgefällt werden.

Bleiben wasserunlösliche Bestandteile zurück, so werden diese durch Zentrifugieren bei 3000 U/Min. während 10 Min. von den wasserlöslichen Bestandteilen getrennt.

3.4.2.2 Wasserunlösliche Bestandteile

Der nach Abdekantieren der wäßrigen Lösung nach Abschnitt 3.4.2.1 verbleibende Rückstand wird nach Abschnitt 1.3.1.1 mikroskopisch auf pflanzliche Gewebelemente untersucht. Anschließend wird der Rückstand je nach Menge in 5 - 50 ml Wasser suspendiert, 1 Stunde bei 140°C im Siko-Spezialtopf autoklaviert und erneut zentrifugiert. Die wäßrige Lösung wird abdekantiert, mit der vierfachen Volumenmenge Alkohol-Aceton R 91 versetzt und die Fällung nach Abschnitt 1.3.3.1 auf Carboxymethylcellulose und Alginsäure geprüft.

Eiweißreiche, farbstoffhaltige Rückstände werden anschließend mit 10 - 50 ml Äthanol-Ammoniak R 14 verrührt, nach einigen Stunden zentrifugiert und in der abdekantierten wäßrigen Lösung nach Entfernung von Alkohol und Ammoniak im Vakuum auf Teerfarbstoffe nach Abschnitt 1.2.2.1.1 geprüft.

Die nach Abschluß dieser Prüfungen noch verbleibenden unlöslichen Bestandteile werden getrocknet, verascht, mit heißer 10 proz. Salzsäure behandelt und abfiltriert. Das Filtrat wird entsprechend Abschnitt 1.3.4.1 zur Prüfung auf Calcium verwendet, während in dem ungelöst gebliebenen Rückstand Titandioxid nach Abschnitt 1.3.4.2 nachgewiesen werden kann.

3.5 Spezielle Trennungsgänge

3.5.1 Nachweis von Schalenbehandlungsmitteln bei Zitrusfrüchten (SCHEMA 2)

20 g Zitrusfruchtschalen

Aceton/Petroläther

3 g Kieselgel

Kieselgel
10 g

Petroläther	→	Paraffin
Tetrachlor= kohlenstoff	→	Diphenyl
Trichlor= äthylen	→	Diphenyl= amin
Benzol	→	o-Phenyl= phenol
Äther	→	Teerfarb= stoffe
Methanol	→	Thioharn= stoff

SCHEMA 2: Trennungsgang für Schalenbehandlungsmittel bei
Zitrusfrüchten

3.5.1.1 Vorbereitung des Untersuchungsmaterials

Das Gewicht der Früchte, das zwischen 500 - 1000 g liegen soll, wird festgestellt. Die Früchte sollen keine Schalenschäden aufweisen. Anschließend werden die Früchte mit Hilfe eines Schälmessers gleichmäßig geschält, wobei von der Albedoschicht bei dickschaligen Früchten möglichst wenig erfaßt wird. Die Schalen werden gewogen und danach im Mixgerät zerkleinert.

3.5.1.2 Einwaage des Untersuchungsmaterials

20,0 g der zerkleinerten Schalen werden in einen 300 ml Erlenmeyerkolben eingewogen, unter leichtem Schütteln des Untersuchungsmaterials 0,1 ml 10 n Schwefelsäure und 5 ml Aceton zugegeben und der Kolben verschlossen.

Nach 2 - 3 Stunden werden unter Schütteln des Inhaltes 40 g wasserfreies Natriumsulfat zugefügt. Der Kolbeninhalt wird am Anfang der Trocknung mehrfach kräftig geschüttelt, um eine möglichst vollständige Durchmischung von Schalen und Trocknungsmittel zu erreichen. Diese Vortrocknung wird während 12 Stunden im Kühlschrank abgeschlossen. Danach werden 50 ml Petroläther-Aceton R 88 zugegeben, vorhandene Klumpen mit einem unten plattgedrückten Glasstab zerdrückt und der Kolben mit Inhalt wiederum mehrere Stunden, gegebenenfalls über Nacht, kühl und dunkel stehengelassen. Die Petroläther-Acetonlösung wird danach durch einen Trichter mit etwas Quarzwatte in einen 300 ml-Erlenmeyerkolben überführt, der Rückstand unter leichtem Erwärmen auf dem Wasserbad noch einmal mit 50 ml und dreimal mit je 25 ml Petroläther-Aceton R 88 ausgewaschen und die Waschlösungen durch den Trichter zu der ersten Extraktionslösung gegeben.

Die vereinigten Lösungen enthalten die nachzuweisenden Fruchtbehandlungsstoffe. Zur Säulenchromatographie muß noch mit 20 g Calciumchlorid, zweckmäßig über Nacht sowie kühl und dunkel, nachgetrocknet werden. Danach wird die Petroläther-Acetonlösung durch ein glattes Filter in einen 500 ml Rundkolben filtriert und

Rückstand und Kolben 3 mal mit je 25 ml Petroläther-Aceton R 88 nachgewaschen. Zu den vereinigten Lösungen werden 3 g Kieselgel Woelm, zur Adsorptionschromatographie, gegeben und die Lösungsmittel im Vakuumrotationsverdampfer (Wasserbad ohne Anwendung von Wärme) abgezogen. Das Vakuum wird unterbrochen, wenn die Mischung eine breiartige Konsistenz angenommen hat. Die letzten Acetonreste im Kieselgel werden ohne Vakuum durch Liegen des Kolbens an der Luft während mehrerer Stunden und unter gelegentlichem Schütteln des Kolbens entfernt. Es darf danach geruchlich kein Aceton mehr feststellbar sein.

3.5.1.3 Fraktionierung der Fruchtbehandlungsstoffe an der Kieselgelsäule

Die auf das Kieselgel aufgezogenen Fruchtbehandlungsstoffe und Schalenbestandteile werden entsprechend Abschnitt 3.3.2 fraktioniert, die mit Tetrachlorkohlenstoff und Benzol erhaltenen Eluate werden aber in 100 ml Meßkolben aufgefangen, die nach Temperierung bei 20°C mit den entsprechenden Lösungsmitteln aufgefüllt werden. Die Auftrennung der Stoffe zeigt Tabelle 67.

Eluierungsmittel	Eluierte Stoffe
Petroläther	Paraffin (äth. Öl)
Tetrachlorkohlenstoff	Diphenyl
Trichloräthylen	Diphenylamin
Benzol	o-Phenylphenol
Diäthyläther	Fettlösliche Teerfarbstoffe (Zitrusfruchtfarbstoffe)
Methanol	Thioharnstoff (Zitrusfruchtfarbstoffe)

Tabelle 67: Fraktionierung von Fruchtbehandlungsstoffen an der Kieselgelsäule

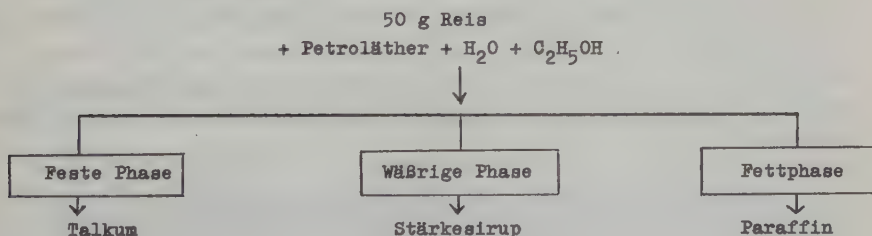
Säule (1,3 cm Ø): Kieselgel Woelm, Aktivitätsstufe I zur Adsorptionschromatographie,
10 g + 3 g

Eluierungsmittel: jeweils 100 ml

Die eluierten Stoffe werden nach Abziehen der Eluierungsmittel im Vakuumrotationsverdampfer erkannt bzw. nachgewiesen. Hierzu werden die gesamten Eluate, von den mit Tetrachlorkohlenstoff und Benzol erhaltenen Eluaten jedoch nur 45 ml verwendet. Die flüchtigen Stoffe enthaltenden Eluate, insbesondere das Tetrachlorkohlenstoffeluat, werden hierbei aber nicht ganz zur Trockene gebracht, sondern die letzten 1 - 2 ml an der Luft bei liegendem Kolben bis auf etwa 0,25 ml abgedunstet. Von den auf 0,25 ml eingeeengten bzw. in 0,25 ml des entsprechenden Lösungsmittels aufgenommenen Fraktionen werden 0,05 ml zur Prüfung auf Diphenyl, Diphenylamin, o-Phenylphenol und Thioharnstoff nach Abschnitt 1.2.6.2.1a verwendet. Flüssiges Paraffin wird nach Abschnitt 1.1.3 erkannt, fettlösliche Teerfarbstoffe werden nach Abschnitt 1.1.5.3 nachgewiesen. Diese unterscheiden sich aber auch von Orangenfarbstoffen bei Chromatographie der Ätherfraktion nach Abschnitt 1.2.6.2.1a.

Wird die Gegenwart von Diphenyl und/oder o-Phenylphenol nachgewiesen, kann die kolorimetrische Bestimmung dieser Stoffe mit dem restlichen Tetrachlorkohlenstoff- bzw. Benzoleluat nach Abschnitt 1.2.6.2.1b und c vorgenommen werden.

3.5.2 Nachweis von Oberflächenbehandlungsmitteln bei Reis (SCHEMA 3)



SCHEMA 3: Trennungsgang für Oberflächenbehandlungsmittel auf Reis

3.5.2.1 Ablösung und Auftrennung der Oberflächenbehandlungsmittel in drei Phasen

50,0 g Reiskörner werden in einem 300 ml fassenden Erlenmeyerkolben mit 10 ml Petroläther und 42 ml Äthanol (96 Vol. %) übergossen, der Kolben verschlossen und unter gelegentlichem Schütteln 24 Stunden stehengelassen. Danach werden 10 ml Wasser zugegeben. Es wird nochmals 24 Stunden unter häufigem Schütteln stehengelassen, besser jedoch 8 - 10 Stunden auf einer Schüttelmaschine in horizontaler Richtung geschüttelt. Danach werden Reiskörner und Lösung mit abgelösten Oberflächenbestandteilen heftig aufgewirbelt und die Lösung durch ein Sieb in ein 200 ml fassendes Zentrifugenglas gegeben. Die Reiskörner werden im Erlenmeyerkolben noch 3 - 5 mal mit 30 - 50 ml Äthanol R 94 und einmal mit 30 ml Petroläther geschüttelt, wobei die abgelösten Oberflächenbestandteile möglichst quantitativ mit den Waschlösungen in das Zentrifugenglas überführt werden. Nach dem Zentrifugieren bei 3000 U/Min. während 10 Min. werden 25 ml Petroläther zur Lösung des abgesetzten Fettes zugegeben und Petrolätherphase sowie wässrige Phase in einen 250 ml fassenden Scheidetrichter gegeben. Der im Zentrifugenglas verbleibende Rückstand wird mit 25 ml Äthanol R 94 gewaschen, zentrifugiert und die Waschlösung zu den im Scheidetrichter befindlichen Flüssigkeiten gegeben. Die alkoholische Phase wird bis zur Trübung mit Wasser versetzt, durchgeschüttelt und nach Schichtentrennung in einen Verdampfungskolben abgelassen. Die Petrolätherphase wird mit 25 ml Äthanol R 94 und 5 ml Wasser gewaschen und die Waschlösung zu der abgetrennten wässrig-alkoholischen Phase gegeben.

3.5.2.2 Nachweis der einzelnen Oberflächenbehandlungsmittel in den drei Phasen

Auf etwa vorhandenes Paraffin wird gegebenenfalls durch die Verseifbarkeit des Rückstandes der Petrolätherphase nach Abschnitt 1.1.3.1 geprüft. Der Nachweis einer Stärkesirupbehandlung wird in der wässrig-alkoholischen Phase nach Abschnitt 1.2.6.6.2c durchgeführt, während die unlöslichen Bestandteile für den Talkumnachweis nach Abschnitt 3.4.1.2 verwendet werden.

4. Probeanalysen zur Überprüfung des Trennungsganges

Die Kontrollproben wurden nach dem im Abschnitt 3, Schema 1, dargelegten Trennungsgang untersucht. Der Nachweis der einzelnen Stoffe erfolgte nach den in Abschnitt 1 aufgeführten Methoden. Bei einigen Proben konnte der Trennungsgang abgekürzt werden.

4.1 Kontrollanalysen mit vollständigem Trennungsgang

4.1.1 Sonnenblumen-Mayonnaise

Probenmenge	: 98 g
Aussehen	: gelblich, dickflüssig
Geruch und Geschmack	: nach Essigsäure, abweichend von Mayonnaise

Untersuchungsergebnis:

Untersuchungen nach Abschnitt 3.1:

Wasser	: 48,6 %
Fettphase	: ca. 42 %
Feste Phase bzw. unlösliche Bestandteile	: vorhanden

Im Trennungsgang gefundene Stoffe:

Tartrazin (E 102)
 Essigsäure
 p-Hydroxybenzoesäuremethylester und p-Hydroxybenzoesäure
 Sorbitanmonooleat
 Polyoxyäthylen-Sorbitanmonooleat
 Paraffinum liquidum
 Flüssiges Fett aus Triglyceriden der Öl- bzw. Palmitinsäure,
 nicht identisch mit Sonnenblumenöl
 Methylcellulose

Wiederholung:

Die Triglyceride wurden nochmals auf Fettsäuren des Erdnußöls geprüft. Auch wurde außerhalb des Trennungsganges mit Äther aus

der Mayonnaise extrahiertes Fett nach Abschnitt 1.1.1.1.2 analysiert. In beiden Fällen wurde nur Öl- bzw. Palmitinsäure gefunden. Arachin- und Stearinsäure waren nicht sichtbar.

Beurteilung:

Als einzige Komponenten natürlicher Herkunft enthielt die Sonnenblumen-Mayonnaise mit Sonnenblumenöl nicht identisches Öl und Wasser. Im übrigen war die Mayonnaise aromatisiert mit Essigsäure, gefärbt mit Tartrazin (E 102) und konserviert mit p-Hydroxybenzoesäuremethylester. Als Emulgatoren waren Sorbitanmonooleat und Polyoxyäthylen-Sorbitanmonooleat vorhanden, als Quellstoff Methylcellulose. Das Öl war zum Teil durch flüssiges Paraffin ersetzt.

Gegeben waren:

Paraffinum liquidum	5,0
Oliven- + Erdnußöl 1 + 1	35,0
Methylcellulose (Tylose MH 50)	3,0
Tween 80	3,5
Span 80	1,5
Nipagin M	0,1
Tartrazin	0,01
Wasser + Essigsäure ad	100,0

4.1.2 Gesundheitskuchen

Probenmenge	: 369 g
Aussehen	: Stück eines Kastenkuchens (16,5 cm lang, 4 - 6,7 cm hoch und 7,5 cm breit), Krume deutlich gelb
Geruch	: nach Vanillin
Geschmack	: süß, vanillinartig

Untersuchungsergebnis:

Untersuchungen nach Abschnitt 3.1:

Wasser	: 22,05 %
Fettphase	: ca. 14 %
Feste Phase bzw. unlösliche Bestandteile	: 46,4 %

Im Trennungsgang gefundene Stoffe:

Tartrazin (E 102)
 Curcumafarbstoff
 Propylgallat
 Vanillin
 Zitronensäure
 Äpfelsäure
 Milchsäure
 Phosphat
 Chlorid (Spuren)
 Monoglycerinstearat und -palmitat
 Extrakt (refraktometrisch 14,5 %) vorwiegend aus Saccharose,
 daneben Glukose, Fruktose, Laktose, Glycerin
 Stärke
 Milcheiweiß 2,1 %
 Butylhydroxytoluol (Spuren)
 Salbenartiges Fett aus Triglyceriden von Öl- bzw. Palmitin-
 säure und wenig Stearinsäure, ähnlich wie Eieröl
 Lecithin
 Natürlicher Eigelbfarbstoff
 β -Carotin (Spuren)

Wiederholung:

Die nach Abschnitt 1.1.4.1 mit Phosphormolybdänsäure durchgeführte Prüfung auf Butylhydroxytoluol wurde mit 2,6-Dichlorchinon=chlorimid wiederholt. Auch hiernach waren Spuren Butylhydroxytoluol nachweisbar.

Beurteilung:

Der Kuchen wurde aus Getreideerzeugnissen, Milch bzw. Milcherzeugnissen, Saccharose und Ei bzw. Eierzeugnissen hergestellt. Der Gehalt an Getreideerzeugnissen ergab sich aus dem Vorliegen von Stärke, der an Eierzeugnissen aus der Gegenwart von Lecithin und Eigelbfarbstoff (einschließlich β -Carotin) sowie dem dünn-schichtchromatographischen Verhalten der Triglyceride, deren Fettsäurezusammensetzung auch für Eieröl zutreffend sein konnte. Milch bzw. Milcherzeugnisse waren durch den Gehalt an Laktose und Milcheiweiß nachgewiesen. Der Phosphatgehalt konnte aus den Milcherzeugnissen, den Eierzeugnissen, aber auch aus zugesetztem

Backpulver stammen. Das galt auch für die nachgewiesenen organischen Säuren, die natürliche Bestandteile der verwendeten Ausgangsstoffe, zum Teil aber auch Bestandteile von zugesetztem Backpulver sein konnten. Chlorid konnte von Kochsalz herrühren, das als Geschmackskomponente zugesetzt wurde, zum Teil wird es aber auch als Begleitstoff der Ausgangsstoffe vorgelegen haben. Das als Geschmacksstoff verwendete Vanillin konnte als künstliches Vanillin oder als natürliches Vanillin in Form von Vanille oder Vanilleextrakt zugesetzt worden sein. Als Süßungsmittel wurde Saccharose verwendet, die geringen Mengen an Glukose und Fruktose dürften durch teilweise Inversion der Saccharose während des Backprozesses oder der analytischen Aufarbeitung entstanden sein.

Hinsichtlich des Gehaltes an Curcumafarbstoff besteht die Möglichkeit, daß dieser als solcher, d.h. als Farbstoff Curcumin E 100 zugesetzt worden ist oder auch in Form einer Curcumpulver-Stärkemischung, die durch entsprechende Behandlung eine Abnahme der Gewürzschärfe erfahren hat. Einen würzigen Geschmack nach Curcuma wies der Kuchen nicht mehr auf. Die Gewürzschärfe konnte allerdings auch durch den Backprozeß abgenommen haben oder durch das ebenfalls vorhandene Vanillin überdeckt worden sein.

Im übrigen enthielt die Backware als Zusatzstoffe den Teerfarbstoff Tartrazin (E 102), das Antioxydans Propylgallat und den Emulgator Monoglycerinstearat bzw. -palmitat. Nach dem reichlichen Vorkommen von Monoglycerid war dieses nicht als natürlicher Bestandteil der vorhandenen Fette, sondern als zugesetzter Stoff anzusehen, von dem wahrscheinlich auch das nachgewiesene Glycerin stammte.

Das in Spuren nachgewiesene Butylhydroxytoluol läßt lediglich den Verdacht zu, daß einer der Ausgangsstoffe dieses Antioxydans enthalten haben kann. Ein direkter Zusatz zu dem vorliegenden Erzeugnis fand offensichtlich nicht statt.

Gegeben waren:

Margarine (Voss-Siegel)	75,0
Glycerinmonostearat (ESMA 509)	25,0
Zucker	100,0
Mehl	250,0
2 Eier	
Vollmilch	62,5 ml
Tartrazin	0,05
Curcumin	0,05
Nipagallin P	0,08
Vanillinzucker (Oetker)	1 Päckchen
Backpulver (Oetker)	1/2 Päckchen

4.1.3 Doppelrahmfrischkäse

Probenmenge	: 123,3 g
Aussehen	: käsig, weiß
Geruch und Geschmack	: käsig, ohne Besonderheit

Untersuchungsergebnis:

Untersuchungen nach Abschnitt 3.1:

Wasser	: 51,4 %
Fettphase	: 30,4 %
Feste Phase bzw. unlösliche Bestandteile	: 14,9 %

Im Trennungsgang gefundene Stoffe:

Sorbinsäure (68,4 mg/100 g)
 Essigsäure (Spuren)
 Zitronensäure
 Milchsäure
 Chlorid
 Phosphat
 Extrakt (refraktometrisch 1,8 %): Laktose
 Milcheiweiß (8,5 %)
 Gelatine
 Calcium
 Salbenartiges Fett von Triglyceriden der Öl- bzw. Palmitinsäure und Myristinsäure, wenig Laurinsäure und Stearinsäure; identisch mit MilCHFett

Wiederholung:

Ein Stoff fehlte, Sorbinsäurewert war zu niedrig.

Sorbinsäure: 77,7 mg/100 g

Zusätzlich wurde Alginsäure gefunden.

Beurteilung:

An Milchbestandteilen enthielt der Käse Milcheiweiß, Calcium, Phosphat, Zitronensäure, Milchsäure, Essigsäure in Spuren, Laktose und Milchfett. Chlorid wird zum Teil aus Milch, zum Teil aus Kochsalz gestammt haben, das als Geschmacksstoff zugesetzt wurde. Im übrigen war der Käse mit Sorbinsäure konserviert und mit den Quellstoffen Alginat und Gelatine angedickt.

Gegeben waren:

Philadelphia (Doppelstück)	125,0
Sorbinsäure	0,1
Gelatine	2,0
Alginat	2,0

4.1.4 Speiseeispulver

Probenmenge	: 101 g
Aussehen	: gelblich, pulverig
Geruch	: nach Milchpulver
Geschmack	: süß, ohne Besonderheit

Untersuchungsergebnis:

Untersuchungen nach Abschnitt 3.1:

Wasser	: 3,0 %
Fettphase	: ca. 12 %
Feste Phase bzw. unlösliche Bestandteile	: 62,9 %

Im Trennungsgang gefundene Stoffe:

Zitronensäure
 Milchsäure
 Chlorid
 Phosphat
 Essigsäure (Spuren)
 Propylenglykolmonostearat
 Extrakt (refraktometrisch 23,1 %): Vorwiegend Saccharose
 und Laktose, daneben Glukose, Fruktose und Spuren Glycerin
 Milcheiweiß (18,9 %)
 Guarmehl
 Butylhydroxytoluol (Spuren)
 Salbenartiges Fett von Triglyceriden der Palmitin- bzw.
 Ölsäure und wenig Stearinsäure, ähnlich wie Eieröl
 Lecithin
 Natürlicher Eigelbfarbstoff
 β -Carotin

Wiederholung:

Ein Quellstoff fehlte.

Zusätzlich wurde Carboxymethylcellulose gefunden, außerdem Calcium und wenig Monoglycerid. Der Nachweis von Butylhydroxytoluol nach Abschnitt 1.1.4.1 mit 2,6-Dichlorchinonchlorimid wurde mit dem gleichen Ergebnis wie bei Abschnitt 4.1.2 wiederholt.

Beurteilung:

Das Speiseeispulver bestand aus Milchpulver, Saccharose, Eipulver, dem Emulgator Propylenglykolmonostearat und den Quellstoffen Guarmehl und Carboxymethylcellulose. Der Gehalt an Milchpulver ergab sich insbesondere aus der Gegenwart von Milcheiweiß, Calcium und Laktose, der an Eierzeugnissen aus dem Vorliegen von Lecithin und Eigelbfarbstoff (einschließlich β -Carotin) sowie dem dünn-schicht-chromatographischen Verhalten der Triglyceride, deren Fettsäurezusammensetzung auch für Eieröl zutreffend sein konnte. Der Phosphatgehalt konnte aus den Milcherzeugnissen oder aus den Eierzeugnissen stammen. Das galt auch für die nachgewiesenen organischen Säuren und das Chlorid, die natürlichen Bestandteile dieser

Ausgangsstoffe sein konnten, oder auch aus Geschmacksgründen als freie Säuren bzw. als Kochsalz zugesetzt wurden. Die vorhandenen geringen Mengen Glukose und Fruktose dürften durch teilweise Inversion der Saccharose während der Aufarbeitung entstanden sein.

Die geringen Mengen Monoglycerid, und damit auch das in Spuren feststellbare Glycerin, konnten von einem direkten Zusatz dieses Emulgators herrühren. Möglicherweise war das Monoglycerid aber auch nur als natürlicher Fettbegleitstoff vorhanden. Butylhydroxytoluol konnte, dem nur spurenhafte Auftreten dieses Antioxydants zufolge, nur als Bestandteil eines Ausgangsstoffes vorgelegt haben. Ein direkter Zusatz zu dem Speiseeispulver war auszuschließen.

Gegeben waren:

Milchpulver	50,0
Zucker	35,0
Eipulver	10,0
Monoester des 1,2-Propylen- glykols (Promolan S = Propy- lenglykolmonostearat)	2,0
Carboxymethylcellulose (Tylose C 30)	2,0
Guar Gummi	2,0

4.1.5 Kutterhilfsmittel für Brühwürste

Probenmenge	: 89,8 g
Aussehen	: pulvrig, weiß, etwas grobkörnig
Geruch	: schwach milchpulverartig
Geschmack	: schwach alkalisch, nicht süß

Untersuchungsergebnis:

Untersuchungen nach Abschnitt 3.1:

Wasser	: 10,7 %
Fettphase	: 24,0 %, unlöslich in Petrol- äther
Feste Phase bzw. unlösliche Bestandteile	: 75,8 %

Im Trennungsgang gefundene Stoffe:

Palmitin- und Stearinsäure (wenig)
 Zitronensäure
 Milchsäure
 Weinsäure (wenig)
 Essigsäure
 Chlorid
 Phosphat
 Polyglycerinstearat und -palmitat
 Monoglycerinstearat und -palmitat
 Polyglycerin (Spuren)
 Glycerin
 Triglyceride (wenig) der Öl- bzw. Palmitinsäure, wenig
 Myristinsäure
 Milcheiweiß (40 %)

Wiederholung:

Ein Stoff fehlte.

Zusätzlich wurde Pyrophosphat gefunden, neben wenig Orthophosphat.
 Weinsäure wurde wiederum nur in geringen Mengen festgestellt.

Beurteilung:

Das Kutterhilfsmittel bestand aus aufgeschlossenem Milcheiweiß, den Emulgatoren Monoglycerinstearat und -palmitat und Polyglycerinstearat und -palmitat sowie den als Kutterhilfsmitteln verwendeten Salzen der Zitronensäure, Essigsäure, Pyrophosphorsäure und möglicherweise Milchsäure. Weinsäure wurde nur in geringen Mengen gefunden. Es bestand aber auch die Möglichkeit, daß ein Teil der Säuren als Begleitstoffe des Milcheiweißes vorgelegen haben, d.h. noch als ursprünglicher Milchbestandteil (Milchsäure) oder als Aufschlußmittel (Zitronensäure). Chlorid wird in Form von Kochsalz zugesetzt worden sein oder als Begleitstoff vorgelegen haben. Auch waren die freien Fettsäuren, Polyglycerin und Glycerin wahrscheinlich als Begleitstoffe der Emulgatoren vorhanden.

Gegeben waren:

Natr. citrat	10,0
Kal.-Nat. tartrat	10,0
Natr. acetat	10,0
aufgeschlossenes Milchei- weiß	43,0
Monoglyceride	10,0
Gatodan PGE	9,0
(Tetraglycerinester von Palmitin- und Stearinsäure)	
Natr. pyrophosphat	1,0

4.2 Kontrollanalysen mit abgekürztem Trennungsgang

4.2.1 Konfitüre

Probenmenge	: 100 g
Aussehen	: rot, dickbreilig mit Kernen
Geruch	: fruchtig
Geschmack	: fruchtig, süß

Untersuchungsergebnis:

Untersuchungen nach Abschnitt 3.1:

Wasser	: 30 %
Fettphase	: nicht vorhanden
Feste Phase bzw. unlös- liche Bestandteile	: vorhanden

Im Trennungsgang gefundene Stoffe:

Erythrosin (E 127)
 Salizylsäure
 Sorbinsäure (74 mg/100 g)
 Zitronensäure
 Äpfelsäure
 Milchsäure
 Essigsäure (Spuren)
 Polyhydroxysäure, nicht identifiziert
 Phosphat (Spuren)
 Extrakt (pyknometrisch 64,8 %): Vorwiegend Glukose und Fruktose, daneben Saccharose
 Gewebselemente der Johannisbeere und Erdbeere
 Pektin

Wiederholung:

Der Sorbinsäurewert war zu niedrig.

Sorbinsäure: 81 mg/100 g

Beurteilung:

Die Konfitüre war aus Johannisbeeren, Erdbeeren und Zucker hergestellt worden. Auf diese Ausgangsmaterialien war die Gegenwart eines Teils der nachgewiesenen Stoffe zurückzuführen. Hierzu gehörten insbesondere die Zuckerstoffe Glukose und Fruktose, die zum überwiegenden Teil während des Kochprozesses durch Invertierung der Saccharose entstanden sein dürften, zum Teil aber auch als natürliche Bestandteile von Früchten vorhanden waren. Dies galt auch für die nachgewiesenen organischen Genußsäuren (Zitronen-, Äpfel-, Milchsäure), die allerdings auch als solche aus Geschmacksgründen oder zur Erhöhung der Gelierfähigkeit zugesetzt sein konnten, sowie für die nicht näher identifizierte Polyhydroxysäure und die in Spuren nachgewiesene Essig- und Phosphorsäure. Pektin ist ein in Obstfrüchten vorkommender Quellstoff. Das nachgewiesene Pektin stammte daher ausschließlich aus den verwendeten Früchten oder es stammte nur zum Teil hieraus und wurde zum anderen Teil als solches zugesetzt.

Im übrigen war die Konfitüre mit Erythrosin (E 127) gefärbt und mit Sorbinsäure und Salizylsäure konserviert.

Gegeben waren:

Erythrosin LR 1	10 mg
Salizylsäure	100 mg
Sorbinsäure	100 mg
Johannisbeermarmelade (mit Erdbeeren)	100 g
Spiritus	ca. 2 ml

4.2.2 Weiße Tauchmasse für Salami

Probenmenge	: 89 g
Aussehen	: weiß, gummiartig
Geruch	: ohne Besonderheit
Geschmack	: süßlich

Untersuchungsergebnis:

Untersuchungen nach Abschnitt 3.1:

Wasser	: 58,0 %
Fettphase	: nicht vorhanden
Feste Phase bzw. unlösliche Bestandteile	: vorhanden

Im Trennungsgang gefundene Stoffe:

Essigsäure (Spuren)
 p-Hydroxybenzoesäure
 p-Hydroxybenzoesäuremethyl- und -propylester
 Extrakt (15 % refraktometrisch): Glycerin
 Gelatine
 Calcium
 Carbonat
 Titandioxid (5,6 %, als salzsäureunlöslicher Bestandteil)

Gegeben waren:

Gelatine (Puragel)	10,0
Glycerin	20,0
Nipaester M + P	0,1
Calciumcarbonat	5,0
Titandioxid	5,0
Wasser ad	100,0

4.2.3 Gewürzgurken

Probenmenge	: 206 g, davon 80 g Gurken und eine Zwiebel von 12 g
Aussehen	: 2 Gurken und eine gelbfleckrige Zwiebel in wäßriger Aufgußflüssigkeit
Geruch und Geschmack	: arteigen, ohne Besonderheit

Untersuchungsergebnis:

Untersuchungen nach Abschnitt 3.1:

Wasser	: 94,0 %
Fettphase	: nicht vorhanden
Feste Phase bzw. unlösliche Bestandteile	: Zellgewebe der Gurke

Im Trennungsgang gefundene Stoffe:

Chlorophyll
 Aminosäuren, nicht näher identifiziert
 Benzoesäure (38,7 mg/100 g)
 Äpfelsäure
 Cyclohexylsulfaminsäure
 Zitronensäure (Spuren)
 Milchsäure (Spuren)
 Essigsäure
 Ameisensäure (0,5 %)
 Chlorid
 Phosphat
 Nitrat
 Dulcin
 Extrakt (refraktometrisch 3,0 %): Glukose, Fruktose und nicht identifizierte reduzierende Zucker (kein Stärkesirup)

Wiederholung:

Der Benzoesäure- und der Ameisensäurewert waren zu niedrig.

Benzoesäure : 43 mg/100 g
 Ameisensäure : 0,8 %

Beurteilung:

Chlorophyll, Äpfelsäure, Zitronensäure, Milchsäure und Phosphorsäure waren bei diesem Erzeugnis offenbar als natürliche Gurken- bzw. Zwiebelbestandteile vorhanden. Dies galt auch für den Nitratgehalt, der u.U. auf eine reichliche Stickstoffdüngung der Gurken zurückzuführen war. Glukose und Fruktose werden weniger aus den

Gurken selbst gestammt haben als vielmehr durch Invertierung aus Saccharose entstanden sein, die der Aufgußflüssigkeit zugesetzt wurde. Auch der Essigsäuregehalt wird von einem Zusatz von Essig oder Essigsäure zum Aufguß herrühren. Reduzierende Zucker mit niedrigen hRf - Werten der vorliegenden Art konnten bisher in Gurkenkonserven nicht festgestellt werden, auch wurden Angaben über Zahl und Art von Aminosäuren in Gurkenkonserven nicht gemacht. Die Gegenwart dieser Stoffe war daher nicht zu erklären.

Im übrigen war das Erzeugnis mit Ameisensäure und Benzoesäure konserviert und mit Dulcin und Natriumcyclamat künstlich gesüßt.

Gegeben waren:

Dulcin	0,1
Cyclamat	0,1
Ameisensäure	2,0
Benzoesäure	0,1
Gurken und Flüssigkeit	198 - 200

4.2.4 Fett

Gewicht	: 96 g
Aussehen	: schmalzartig
Geruch und Geschmack	: schmalzartig, ohne Besonderheit

Untersuchungsergebnis:

Untersuchungen nach Abschnitt 3.1:

Wasser	: nicht vorhanden
Feste Phase bzw. unlösliche Bestandteile	: nicht vorhanden

Im Trennungsgang gefundene Stoffe:

Butylhydroxyanisol
 Propylgallat
 Essigsäure (Spuren)
 Butylhydroxytoluol
 Festes Fett aus Triglyceriden der Öl-/Palmitinsäure und wenig
 Stearinsäure, entsprechend Schweineschmalz

Wiederholung:

Ein Stoff fehlte.

Zusätzlich wurde Ascorbinsäure als Verbindung mit Fettsäuren gefunden.

Beurteilung:

Nach der Untersuchung der Triglyceride und ihren Verseifungsprodukten handelte es sich bei dem Fett um Schweineschmalz. Dieses war mit den Antioxydantien Butylhydroxyanisol, Butylhydroxytoluol, Propylgallat und Ascorbylpalmitat bzw. ähnlichen Fettsäureverbindungen der Ascorbinsäure stabilisiert.

Gegeben waren:

BHA	0,1
BHT	0,1
Propylgallat	0,1
Ascorbylpalmitat	0,1
Schweineschmalz	ca. 100,0

4.2.5 Backfettvormischung

Gewicht	: 99 g
Aussehen	: gelblich, talartig
Geruch und Geschmack	: abweichend von Fett

Untersuchungsergebnis:

Untersuchungen nach Abschnitt 3.1:

Wasser	: 1,6 %
Feste Phase bzw. unlösliche Bestandteile	: nicht vorhanden

Im Trennungsgang gefundene Stoffe:

Weinsäure
 Milchsäure
 Essigsäure
 Monoglycerinpalmitat bzw. -stearat
 Extrakt (refraktometrisch 11,8 %): Vorwiegend Saccharose, daneben Glukose, Fruktose, Glycerin
 2,3-Butandiol (Spuren)
 Festes Fett von Triglyceriden der Laurin- und Myristinsäure und wenig Öl- bzw. Palmitinsäure
 Acetyliertes Weinsäureglycerid, veresterte Fettsäuren: Palmitin- und Stearinsäure

Beurteilung:

Die Backfettvormischung bestand aus Fett, Saccharose und den Emulgatoren Monoglycerid und acetyliertes Weinsäureglycerid. Nach der Fettsäurezusammensetzung der Triglyceride des Fettes, in der Laurinsäure überwog, lag ein palmkernartiges Fett vor. Die Emulgatoren enthielten als Fettsäuren Öl- bzw. Palmitinsäure und Stearinsäure. Essigsäure und Weinsäure waren offensichtlich als Spaltprodukte des acetylierten Weinsäureglycerids vorhanden, Fruktose und Glukose als Spaltprodukte der Saccharose und Glycerin als Begleitstoff des Monoglycerids.

Das spurenhafte Auftreten von 2,3-Butandiol, das natürlicherweise nur bei der alkoholischen Gärung entsteht, konnte bei vorliegendem Erzeugnis nicht erklärt werden. Dies galt auch für die Gegenwart der Milchsäure.

Gegeben waren:

Saccharose	10,0
Monoglyceride (ESMA 509)	30,0
Weinsäureester	20,0
(Panodan AT, acetyliert)	
Neutralfett	40,0
(Massa Estarinum AB)	

5. Reagentienverzeichnis

a) Reagenzlösungen

- R 1: Phosphormolybdänsäure-Lösung I:
20 g Phosphormolybdänsäure werden in 100 ml Äthanol (96 Vol. %) gelöst.
- R 2: Hydroxylamin-Lösung I:
Stammlösung a) 7 g Hydroxylamin·HCl werden in 100 ml Methanol gelöst.
Stammlösung b) 11,2 g Kaliumhydroxid werden in 200 ml Methanol gelöst. Zum Gebrauch werden 1 Volumenteil a und 2 Volumenteile b gemischt und vom ausgefallenen Kaliumchlorid abfiltriert.
- R 3: Eisessig-Tetrahydrofuran-Lösung:
1 Volumenteil Eisessig wird mit 4 Volumenteilen Tetrahydrofuran gemischt.
- R 4: Eisenchlorid-Lösung I:
2 g Eisenchlorid ($\text{FeCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$) werden in einem Gemisch aus 20 ml Äthanol (96 Vol. %) und 80 ml n-Butanol gelöst.
- R 5: Alkoholische Kalilauge, 0,5 n:
Man löst 35 g Kaliumhydroxid in 20 ml Wasser und füllt mit Äthanol (96 Vol. %) auf 1 Liter auf. Die Lösung bleibt einen Tag verschlossen stehen und wird dann in eine mit Gummistopfen zu verschließende braune Flasche dekantiert. Der Alkoholgehalt der Verseifungslösung soll mindestens 90 Vol. % betragen.
- R 6: Phosphormolybdänsäure-Lösung II:
5 g Phosphormolybdänsäure werden in 100 ml Äthanol (96 Vol. %) gelöst.
- R 7: 0,2 g 2,6-Dichlorchinonchlorimid werden in 20 ml Äthanol gelöst.
- R 8: Natriumperjodat-Benzidin-Reagenz:
a) 0,1 g Natriummetaperjodat werden in 100 ml Wasser gelöst.
b) 2,8 g Benzidin werden in 80 ml Äthanol (96 Vol. %) gelöst.
Zu dieser Lösung gibt man 70 ml Wasser, 30 ml Aceton und 1,5 ml 1 n HCl.

Sprühvorgang: Etwa 3 Min. nach dem Besprühen mit a wird das noch feuchte Chromatogramm mit b besprüht.

R 9: Eisenchlorid-Lösung II:

1 g Eisenchlorid ($\text{FeCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$) wird in wäßriger, 1 proz. Salzsäure gelöst.

R 10: Methanol - Wasser 95 + 5 (Vol.).

R 11: 10 g Trichloressigsäure werden in Wasser zu 100 ml gelöst.

R 12: 0,5 g 2,6-Dichlorphenolindophenol-Natrium in Wasser zu 100 ml lösen.

R 13: 2 g 2,4-Dinitrophenylhydrazin werden in der noch warmen Mischung aus 75 ml Wasser und 25 ml Schwefelsäure ($d=1,84$) gelöst.

R 14: 730 ml Äthanol (96 Vol. %) und 200 g 25 proz. Ammoniaklösung werden mit Wasser auf 1000 ml aufgefüllt.

R 15: 95 ml Methanol werden mit 5 ml 25 proz. Ammoniak-Lösung vermischt.

R 16: Gereinigte Wolle:

Weißer Schafwolle wird in der Soxhlet-Apparatur durch Extrahieren mit Petroläther (25 bis 30 Abläufe) entfettet. Nach dem Trocknen an der Luft, wobei ein Auspressen des noch im Garn enthaltenen Petroläthers mit den Händen vermieden wird, um nicht wieder Fett daran zu bringen, wird die Wolle in einem großen Becherglas mit einer reichlichen Menge 5 proz. Ammoniaklösung eine Stunde lang bei etwa 80°C unter häufigem Rühren erwärmt. Hierauf wird die Wolle gut in Wasser gespült und an Glasstäben hängend über Nacht getrocknet.

R 17: 10 g Kaliumhydrogensulfat werden mit Wasser zu 100 g gelöst.

R 18: 200 g 25 proz. Ammoniaklösung werden mit Wasser zu 1000 g gelöst.

R 19: Pyridin - Wasser - Eisessig 20 + 80 + 2 (Vol.)

R 20: 0,5 g Chromotropsäure (Natriumsalz) werden in Wasser zu 100 ml gelöst. Die Lösung muß jeweils frisch hergestellt werden.

R 21: 81 proz. Schwefelsäure:

3 Volumenteile konzentrierte Schwefelsäure ($d=1,84$) werden mit 1 Volumenteil Wasser vermischt und abgekühlt.

R 22: NESSLERS-Reagenz:

10 g Quecksilberjodid (HgJ_2) werden mit Wasser fein verrieben und in eine braune, gewogene Glasstöpselflasche gespült, die 5 g Kaliumjodid, in 10 g Wasser gelöst, enthält. Das Gewicht der Lösung wird mit Wasser auf 75 g ergänzt, das Quecksilbersalz durch Schütteln gelöst und 60 g 33 proz. Natronlauge zugegeben.

R 23: Gesättigte REINECKESalz-Lösung:

4 g REINECKESalz ($\text{NH}_4 \text{Cr}(\text{NH}_3)_2(\text{SCN})_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) werden mit Wasser zu 100 g gelöst.

R 24: MAYERS-Reagenz:

a) 1,35 g Quecksilber(II)-chlorid werden in 60 ml Wasser gelöst.

b) 5 g Kaliumjodid werden in 10 ml Wasser gelöst.

Die Lösungen a und b werden vereinigt und mit Wasser auf 100 ml aufgefüllt.

R 25: DRAGENDORFFs-Reagenz:

a) 850 mg basisches Wismutnitrat werden mit 40 ml Wasser gemischt und 10 ml Essigsäure zugesetzt.

b) 8 g Kaliumjodid werden in 20 ml Wasser gelöst.

Die Lösungen a und b werden vermischt und sind in einer braunen Flasche einige Monate haltbar. Zur Verwendung als Sprühlösung werden 5 ml der Lösung mit 10 ml Essigsäure und 50 ml Wasser verdünnt.

R 26: Ninhydrin-Reagenz:

0,2 g Ninhydrin und 5 g Essigsäure mit Äthanol (96 Vol. %) zu 100 ml lösen.

R 27: Wasserstoffperoxid-Eisensalz-Reagenz:

a) 9 ml frische 0,6 proz. Wasserstoffperoxidlösung werden vor dem Sprühen mit 1 ml gesättigter Mangansulfatlösung gemischt.

b) Gleiche Volumina einer frischen Eisen(II)-sulfatlösung ($3 \text{ g FeSO}_4 \cdot 7 \text{ H}_2\text{O}/100 \text{ ml}$) und einer Eisen(III)-chloridlösung ($3 \text{ g FeCl}_3 \cdot 6 \text{ H}_2\text{O}/100 \text{ ml}$) werden vor Gebrauch gemischt.

Sprühvorgang: Das Chromatogramm wird zunächst mit Lösung a besprüht und nach etwa 3 Min. mit Lösung b.

R 28: MILLONs-Reagenz:

1 Teil Quecksilber wird in 1 Teil rauchender Salpetersäure ohne zu erwärmen gelöst und die Lösung mit 2 Teilen Wasser versetzt; ein eventuell hierbei entstehender Niederschlag wird durch tropfenweise Zugabe von rauchender Salpetersäure wieder in Lösung gebracht.

R 29: Nitriergemisch:

10 g Kaliumnitrat werden in 100 ml Schwefelsäure ($d=1,84$) gelöst.

R 30: Aceton - absolutes Äthanol 1 + 1 (Vol.)

R 31: Alkoholische Natronlauge:

5 g carbonatfreies, festes Natriumhydroxid werden in 50 ml Wasser gelöst und nach Abkühlen mit reinem Äthanol (96 Vol.%) auf 100 ml aufgefüllt. Falls die Lösung trübe ist oder während des Stehens trübe wird, ist vor Anwendung klar zu filtrieren.

R 32: Gleiche Teile 0,01 n Kaliumdichromatlösung und 0,3 n Schwefelsäure werden vor Anwendung gemischt.

R 33: Thiobarbitursäure-Lösung:

0,5 g Thiobarbitursäure werden in etwa 20 ml Wasser und 10 ml 1 n Natronlauge unter Umschwenken gelöst. Die Lösung wird in einem 100 ml Meßkolben mit 11 ml 1 n Salzsäure versetzt und mit Wasser bis zur Marke aufgefüllt. Für genaue Messungen wird die Lösung täglich frisch bereitet.

R 34: Diazomethan-Lösung

2 g Nitrosomethylharnstoff werden in kleinen Anteilen in 20 ml Diäthyläther eingetragen, der mit 6 ml stark gekühlter wäßriger 40 proz. Kaliumhydroxidlösung unterschichtet ist. Die Spaltung wird in einem weithalsigen Erlenmeyerkolben unter dem Abzug vorgenommen. Man muß dauernd schützen und die Temperatur auf $+5^{\circ}\text{C}$ halten. Nach 5 - 10 Min. ist die Reaktion beendet. Man gießt die tiefgelbe Ätherlösung ab, spült mit etwas Äther nach und trocknet die ätherische Diazomethanlösung etwa 3 Stunden mit einigen Stückchen Kaliumhydroxid. Die Diazomethanlösung hält sich mehrere Tage, erleidet aber eine stetige, langsame Zersetzung unter

N₂-Entwicklung. Darum darf das Aufbewahrungsgefäß auch nicht fest verschlossen werden. Bei Methylierungen von sauren und phenolischen Hydroxylgruppen wird die Diazomethanlösung bis zur schwachen Gelbfärbung und bis zum Aufhören der Gasentwicklung zugegeben.

R 35: Hydroxylamin-Lösung II:

- a) 5 g Hydroxylamin . HCl mit Methanol zu 100 ml lösen.
 - b) 12,5 g Natriumhydroxid mit Methanol zu 100 ml lösen.
- Zum Gebrauch werden gleiche Volumenteile a und b gemischt und ausgefallenes Natriumchlorid abfiltriert.

R 36: Quecksilber(II)-chlorid-Lösung:

10 g Quecksilber(II)-chlorid und 3 g Natriumchlorid werden in Wasser gelöst und auf 100 ml mit Wasser aufgefüllt.

R 37: 50 mg Acridin in 100 ml Methanol lösen

R 38: 0,2 g 2',7'-Dichlorfluorescein in 100 ml Äthanol (96 Vol. %) lösen.

R 39: Ammoniummolybdat-Lösung I:

- a) 7,5 g Ammoniummolybdat werden mit Wasser zu 100 g gelöst.
 - b) Salpetersäure (d=1,4)
- Sprühvorgang: Vor dem Sprühen werden gleiche Teile a und b gemischt.

R 40: Eikonogen-Reagenz:

0,5 g 1-Amino-2-hydroxynaphthalinsulfonsäure-(4) werden in der Wärme in 195 ml 15 proz. Natriumpyrosulfitlösung und 5 ml 5 proz. Natriumsulfitlösung gelöst.

R 41: 0,5 g 2,4,7-Trinitrofluorenon(9) in 100 ml Aceton lösen. Die Lösung ist haltbar.

R 42: 0,1 g 2,6-Dibromchinonchlorimid in 100 ml Äthanol (95 Vol.%) lösen. Die Lösung muß täglich frisch bereitet werden.

R 43: Vor Anwendung werden gleiche Teile Salpetersäure (d=1,4) und Perhydrol (30 % H₂O₂) gemischt.

R 44: 0,25 g Natriumnitrit mit Wasser zu 100 g lösen. Die Lösung muß frisch hergestellt werden.

R 45: 1 g Ammoniumsulfamat mit Wasser zu 100 g lösen.

R 46: 0,5 g N-(1-Naphthyl-)äthylendiamindihydrochlorid mit Wasser zu 100 g lösen.

R 47: 20 mg Echtblausalz B in 10 ml Wasser lösen. Die Lösung muß frisch hergestellt werden.

- R 48: Methanol - Wasser 1 + 1 (Vol.)
- R 49: 90 ml gesättigte Hydrazinsulfatlösung werden mit 10 ml 4 n Salzsäure gemischt.
- R 50: 0,5 g Benzidin werden in einer Mischung aus 20 ml Eisessig und 80 ml Äthanol (96 Vol. %) gelöst.
- R 51: 20 ml 65 proz. Salpetersäure werden mit 80 ml Aceton gemischt.
- R 52: Modifiziertes DRAGENDORFF-Reagenz:
 1,7 g basisches Wismutnitrat ($\text{BiONO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$) werden in 20 ml Eisessig unter Erwärmen gelöst und die Lösung mit Wasser auf 100 ml aufgefüllt. Diese Lösung wird dann im 1 l Meßkolben mit einer Lösung von 40 g Kaliumjodid in 100 ml Wasser versetzt, 200 ml Eisessig zugefügt und mit Wasser zur Marke aufgefüllt.
 Zum Besprühen werden 100 ml dieser Lösung mit 50 ml 20 proz. Bariumchlorid-Lösung versetzt. Das Reagenz ist gut verschlossen und vor Licht geschützt etwa 14 Tage haltbar.
- R 53: a) 4 g Anilin zu 100 ml mit Äthanol (95 Vol. %) lösen.
 b) 4 g Diphenylamin zu 100 ml mit Äthanol (95 Vol. %) lösen.
 c) Phosphorsäure, 85 %
 Vor Anwendung 5 Volumenteile a, 5 Volumenteile b und 1 Volumenteil c mischen. Das besprühte Chromatogramm wird 5 - 7 Min. bei 100°C erhitzt. Längeres Erhitzen ist zu vermeiden (Blaufärbung des gesamten Chromatogramms).
- R 54: 15 g Kaliumferrocyanid mit Wasser zu 100 ml lösen.
- R 55: 30 g Zinksulfat mit Wasser zu 100 ml lösen.
- R 56: 10 g Natriumhydroxid mit Wasser zu 100 g lösen.
- R 57: 90 ml 5 proz. Silbernitratlösung werden mit 10 ml 25 proz. Ammoniaklösung gemischt.
- R 58: Chloralhydratlösung:
 80 g Chloralhydrat werden in 50 ml Wasser gelöst.
- R 59: Benzol - Methanol 1 + 1 (Vol.)
- R 60: 10 g Trichloressigsäure werden mit Wasser zu 100 g gelöst.
 Die Lösung wird zur Vorkühlung im Kühlschrank aufbewahrt.
- R 61: 5 g Trichloressigsäure werden mit Wasser zu 100 g gelöst.

R 62: Ammoniummolybdat-Lösung II:

5 g Ammoniummolybdat werden mit Wasser zu 100 g gelöst.
Die Lösung wird in einer Polyäthylen-Flasche aufbewahrt.

R 63: Zinnchlorid-Stammlösung:

10 g Zinn(II)-chlorid werden in 25 ml Salzsäure ($d=1,19$) gelöst. Zum Gebrauch wird 1 ml der Stammlösung mit 1 n Schwefelsäure auf 200 ml verdünnt.

R 64: Eichlösung zur Phosphorbestimmung:

Primäres Kaliumphosphat nach Sörensen wird 3 Stunden bei 105°C getrocknet. 0,4393 g werden mit Wasser auf 1000 ml gelöst. 25 ml der Lösung werden mit Wasser auf 250 ml verdünnt. 1 ml dieser Phosphatlösung enthält $10\mu\text{g}$ Phosphor. Zur Aufstellung der Eichkurve werden Lösungen verwendet, die in den zur kolorimetrischen Bestimmung verwendeten 10,0 ml Isobutanol 1 - $10\mu\text{g}$ P enthalten.

R 65: 1 g Pikrinsäure wird in 100 ml Wasser gelöst.

R 66: Natriumcarbonat-Natriumhydrogencarbonatpufferlösung (pH 10 und Ionenstärke, $\mu = 0,15$):

750 ml einer 0,1 m Natriumcarbonatlösung, 750 ml einer 0,1 m Natriumhydrogencarbonatlösung und 500 ml Wasser mischen.

R 67: Verdünnte Pufferlösung:

Pufferlösung R 66 mit der gleichen Volumenmenge Wasser verdünnen.

R 68: Gesättigte Amidoschwarz 10 B-Lösung:

0,1 g Amidoschwarz wird in einer Mischung aus 9 Volumenteilen Methanol und 1 Volumenteil Eisessig durch wiederholtes Schütteln gelöst. Vor jedem Gebrauch wird die Lösung filtriert.

R 69: 1 Volumenteil Eisessig mit 9 Volumenteilen Methanol mischen.

R 70: 1,23 g p-Anisidin und 1,66 g Phthalsäure in 100 ml Äthanol (96 Vol. %) lösen. Die Lösung wird kühl und in brauner Flasche aufbewahrt. Dunkelbraun gewordene Lösungen sind unbrauchbar.

R 71: Boratpuffer (pH 10, Ionenstärke, $\mu = 0,13$):

12,37 g (= 0,2 mol) Borsäure in 100 ml 1 n Natronlauge lösen und mit Wasser auf 1000 ml auffüllen. 600 ml dieser Lösung mit 400 ml 0,1 n Natronlauge mischen.

R 72: Verdünnter Boratpuffer:

1 Volumenteil Boratpuffer R 71 mit 1 Volumenteil Wasser verdünnen.

R 73: 2 g Perjodsäure in 10 ml Wasser lösen und mit 90 ml Äthanol (96 Vol. %) mischen.

R 74: SCHIFFs-Reagenz:

1 g Fuchsin in 100 ml Wasser heiß lösen, auf etwa 50°C abkühlen, mit 1 ml Salzsäure ($d=1,19$) und 2 g Kaliumpyrosulfit versetzen, gut schütteln und über Nacht bei Zimmertemperatur stehenlassen. Vor Anwendung mit etwa 1 g Aktivkohle schütteln und filtrieren.

R 75: 1 m Formaldehydlösung und 1 m Ammoniumhydroxidlösung zu gleichen Volumenteilen mischen.

R 76: 1 Volumenteil 1 n Salzsäure und 2 Volumenteile Äthanol (96 Vol. %) mischen.

R 77: Eisessig - Methanol 1 + 3 (Vol.)

R 78: Gleiche Gewichtsmengen Natriumcarbonat, wasserfrei, und Kaliumcarbonat im Mörtel verreiben.

R 79: 0,05 m Komplexon-III-Lösung:

18,61 g Komplexon III (Dinatriumsalz der Äthylendiamintetraessigsäure) mit Wasser zu 1000 ml lösen.

R 80: 40 g Natriumhydroxid mit Wasser zu 100 ml lösen.

R 81: Calcon-Indikator:

1 g Calcon (Natriumsalz der 1-(2-Hydroxy-1-naphthylazo)-2-naphthol-4-sulfonsäure) mit 100 g Natriumchlorid verreiben.

R 82: Calciumchloridlösung, 0,05 m:

5,05 g Calciumcarbonat werden in einer hinreichenden Menge verdünnter Salzsäure gelöst und die Lösung mit Wasser auf 1 Liter ergänzt. Der Titer der Lösung wird mit 0,05 m Komplexonlösung in Gegenwart von Calcon-Indikator festgestellt.

R 83: Pufferlösung pH 10:

50 g Ammoniumchlorid und 350 g 25 proz. Ammoniaklösung mit Wasser zu 1000 ml lösen.

R 84: Eriochromschwarz-T-Indikator:

1 g Eriochromschwarz T mit 100 g Natriumchlorid verreiben.

- R 85: Magnesiumchlorid-Lösung, 0,05 m:
2,25 g Magnesiumoxid werden in einer hinreichenden Menge verdünnter Salzsäure gelöst und die Lösung mit Wasser auf 1 Liter aufgefüllt. Der Titer der Lösung wird mit 0,05 m Komplexonlösung in Gegenwart von Eriochromschwarz-T-Indikator festgestellt.
- R 86: Aceton (66,7 Vol. %):
Aceton - Wasser 2 + 1 (Vol.)
- R 87: Petroläther (Siedepunkt bis etwa 40°C) - Aceton - absol. Äthanol 6 + 8 + 16 (Vol.)
- R 88: Petroläther (Siedepunkt bis etwa 40°C) - Aceton 2 + 8
- R 89: 0,5 m acetonische Natriumchlorid-Lösung:
29,2 g Natriumchlorid in 300 ml Wasser lösen, unter Umschwenken 600 ml Aceton zugeben und mit Aceton R 86 auf 1000 ml auffüllen.
- R 90: Schwefelsaures Aceton:
90 ml 25 proz. Schwefelsäure werden mit 210 ml Wasser und 600 ml Aceton gemischt.
- R 91: Aceton - absol. Äthanol 1 + 2 (Vol.)
- R 92: Petroläther (Siedepunkt bis etwa 40°C) - absol. Äthanol 2 + 8 (Vol.)
- R 93: Aceton - Wasser 80 + 20 (Vol.)
- R 94: Äthanol (96 Vol. %) - Wasser 80 + 16 (Vol.)
- R 95: Aceton - Äthanol (96 Vol. %) - Wasser 40 + 42 + 18 (Vol.)
- R 96: Gereinigter Kationenaustauscher, H-Form:
Kationenaustauscher I, stark sauer, für analytische Zwecke (Merck), wird gereinigt und in die H-Form gebracht. Hierzu wird der Austauscher in einem Kolben mit einer Mischung aus Aceton - 2 n Salzsäure 2 + 1 (Vol.) übergossen und 24 Stunden unter gelegentlichem Schütteln stehengelassen. Danach wird die überstehende Lösung abgossen und die Reinigung mit der Salzsäure-Aceton-Mischung noch 3 - 4 mal und jedenfalls solange, bis die überstehende Lösung nicht mehr gefärbt ist, wiederholt. Anschließend wird der Austauscher mit wässriger 2 n HCl übergossen und bis zum nächsten Tag stehengelassen. Danach wird der Austauscher in einer Säule

bis zum Verschwinden der Natrium-Flammenfärbung mit 2 n Salzsäure gewaschen, anschließend mit destilliertem Wasser bis zur neutralen Reaktion behandelt und als wäßrige Aufschlämmung aufbewahrt.

R 97: Gereinigter Anionenaustauscher, CO_3 -Form:

Anionenaustauscher III, stark basisch, für analytische Zwecke (Merck), wird gereinigt und in die CO_3 -Form überführt. Zur Reinigung wird der Austauscher in einem Kolben mit einer Mischung aus Aceton - 2 n Salzsäure 2 + 1 (Vol.) übergossen und die überstehende Lösung nach kurzer Zeit abdekantiert. Dies wird solange fortgesetzt, bis der Austauscher die gelbliche Farbe der Chlorid-Form angenommen hat. Dann wird der Austauscher mit der Aceton-Salzsäure-Mischung unter gelegentlichem Schütteln 24 Stunden stehen gelassen und danach die überstehende Lösung abgegossen. Diese Reinigung wird noch 3 - 4 mal durchgeführt. Zur Prüfung auf ausreichende Reinigung wird ein Teil der letzten Waschlösung nach dem Verdünnen mit Wasser mit Äther ausgeschüttelt. Es darf kein kristalliner Rückstand nach der Verdunstung des Äthers erhalten werden, der nach Abschnitt 1.2.5.1.1 einen positiven Benzoessäurenachweis gibt. Anderenfalls muß mit der Aceton-Salzsäure-Mischung weiter extrahiert werden. Erweist sich der Austauscher als ausreichend gereinigt, wird er mit Wasser gewaschen und anschließend mit 1 n Natronlauge in die OH-Form überführt. Dazu wird der Austauscher zunächst im Kolben mit der Natronlauge behandelt, anschließend aber, wenn der Hauptteil der Chloridionen entfernt ist, in einer ausreichend großen Glassäule. Diese wird zweckmäßig an eine große Vorratsflasche mit 1 n Natronlauge so angeschlossen, daß der Zufluß automatisch erfolgt. Es wird solange gewaschen, bis die Chlorid-Reaktion mit Silbernitrat negativ bleibt. Die nur noch schwach chloridhaltigen Durchläufe können zur nächsten Aufbereitung verwendet werden. Im Anschluß an die Laugebehandlung wird mit Wasser gewaschen bis zur neutralen Reaktion. Der Austauscher wird danach - eventuell in Anteilen - in hohe Glasgefäße mit

Gaseinleitungsrohr gefüllt (geeignet sind Waschflaschen), mit etwas Wasser angeschlämmt und ca. 2 Stunden lang ein CO_2 -Strom hindurchgeleitet. Der Austauscher muß danach eine etwas hellere Farbe angenommen haben und bei Zugabe von Salzsäure stark schäumen. Die wäßrige Aufschlammung muß neutral reagieren. Der Austauscher wird danach in Vorratsflaschen eingefüllt und in CO_2 -gesättigtem Wasser aufbewahrt.

- R 98: Aluminiumoxid, standardisiert nach Brockmann (Merck), wird eine Stunde bei 400°C aktiviert.
- R 99: Petroläther (Siedepunkt bis etwa 40°C) - Aceton 98 + 2 (Vol.)
- R 100: Äthanol (96 Vol. %) - 25 proz. Ammoniaklösung 2 + 1 (Vol.)
- R 101: Äthanol (96 Vol. %) - 36 proz. Salzsäure 9 + 1 (Vol.)

b) Fließmittel für die Dünnschicht- und Papierchromatographie

- F 1: Essigsäureäthylester - Tetrahydrofuran - Wasser 1 + 8 + 8 (Vol.)
- F 2: Methanol - Aceton - Wasser 6 + 1 + 3 (Vol.)
- F 3: Petroläther ($50 - 75^\circ\text{C}$) - Benzol - Aceton - Essigsäure 80 + 20 + 2 + 1 (Vol.)
- F 4: Chloroform - Essigsäure 96 + 4 (Vol.)
- F 5: n-Butanol - Dimethylformamid - Wasser 45 + 20 + 50 (Vol.)
- F 6: Amylalkohol(Erg.-B.6) - Essigsäure - Wasser 4 + 1 + 5 (Vol.)
Als Fließmittel wird die Amylalkoholphase verwendet, die wäßrige Phase wird in einem Becherglas in die Trennkammer gestellt.
- F 7: Chloroform - Essigsäureäthylester 50 + 50 (Vol.)
- F 8: 2 g tert. Natriumcitrat werden in 100 ml wäßriger, 5 proz. Ammoniaklösung gelöst.
- F 9: Essigsäureäthylester - Pyridin - Wasser 55 + 25 + 20 (Vol.)
- F 10: Benzol - Tetrachlorkohlenstoff 50 + 50 (Vol.)
- F 11: 50 ml geschmolzenes Phenol + 12,5 mg Titriplex III + 12 ml Puffer pH 12
Puffer pH 12: gleiche Teile $0,067\text{ m Na}_2\text{HPO}_4$ -Lösung und $0,067\text{ n NaOH}$ -Lösung mischen.
- F 12: Aceton - Benzol - Essigsäure 40 + 5 + 1 (Vol.)
- F 13: Benzol - Aceton - Essigsäure 60 + 3 + 1 (Vol.)

- F 14: n-Pentan - n-Hexan - Essigsäure 10 + 10 + 3 (Vol.)
 F 15: Äther - Ameisensäure - Wasser 80 + 16 + 12 (Vol.)
 F 16: Äthanol (96 Vol. %) - Wasser - 25 proz. Ammoniaklösung
 80 + 16 + 4 (Vol.)
 F 17: Shellsol A - n-Propanol - Essigsäure - Ameisensäure
 45 + 6 + 7 + 2 (Vol.)
 Shellsol A: hochsiedendes, aromatenreiches Kohlenwasser-
 stoffgemisch der Firma Shell m.b.H.
 F 18: Isopropanol - 20 proz. Trichloressigsäure - Wasser - 25 proz.
 Ammoniaklösung 35 + 10 + 5 + 0,15 (Vol.)
 F 19: Methanol - Wasser 80 + 20 (Vol.)
 F 20: Chloroform - Essigsäureäthylester - Heptan 60 + 20 + 20 (Vol.)
 F 21: n-Butanol - Essigsäure - Wasser 8 + 2 + 2 (Vol.)
 F 22: n-Propanol - Essigsäureäthylester - Wasser 65 + 10 + 25 (Vol.)
 F 23: Amylalkohol(Erg.-B.6) - Essigsäure - Wasser 45 + 15 + 10 (Vol.)
 F 24: Methyläthylketon - gesättigte, wäßrige Borsäurelösung -
 Essigsäure 90 + 10 + 5 (Vol.)
 F 25: n-Propanol - 25 proz. Ammoniaklösung 7 + 3 (Vol.)
 F 26: Chloroform - Aceton - 5 n Ammoniaklösung 10 + 80 + 10 (Vol.)
 F 27: Aceton - Essigsäure 70 + 30 (Vol.)
 F 28: Isobutanol - Pyridin - Wasser 6 + 4 + 3 (Vol.)
 F 29: n-Butanol - n-Propanol - Wasser 1 + 1 + 1 (Vol.)
 F 30: Methanol - Aceton - Triäthanolamin 50 + 50 + 1,5 (Vol.)
 F 31: Isobutanol - Pyridin - Essigsäure - Wasser 33 + 33 + 1 + 33
 (Vol.)

o) Platten für die Dünnschichtchromatographie

P 1: Kieselgur-G-Platte:

30 g Kieselgur G (Merck) werden mit 60 ml Wasser angeschüttelt und die Suspension in einer Schicht von 250 μ Dicke mit Hilfe eines Streichgerätes auf 5 Platten (20 x 20 cm) gestrichen. Nach kurzem Trocknen an der Luft werden die Platten 30 Min. bei 105°C aktiviert und nach dem Abkühlen in einem Vakuum-Exsikkator über Blaugel aufbewahrt.

P 2: Kieselgur-G-Platte, hydrophobiert:

Eine Kieselgur-G-Platte P 1 wird in einer Foto-Entwickler= schale in eine 8 proz. Lösung von Paraffinöl und Petroläther (50 - 75°C) getaucht und danach eine Stunde an der Luft bei Zimmertemperatur getrocknet. Die Hydrophobierung muß je= weils frisch erfolgen.

P 3: Kieselgel-G-Platte:

30 g Kieselgel G (Merck) werden mit 60 ml Wasser angeschüt= telt und die Suspension in einer Schicht von 250 µ Dicke mit Hilfe eines Streichgerätes auf fünf Platten (20 x 20 cm) gestrichen. Nach kurzem Trocknen an der Luft werden die Plat= ten eine Stunde bei 120°C aktiviert und nach dem Abkühlen in einem Vorratsgefäß über Blaugel aufbewahrt.

P 4: Polyamid-Platte:

7,5 g Polyamid Woelm DC werden mit 45 ml einer Mischung von Chloroform - Methanol 2 + 3 angeschüttelt und die Suspension in einer Schicht von 250 µ Dicke auf fünf Platten (20 x 20 cm) gestrichen. Die Platten werden an der Luft getrocknet und ohne Trockenmittel aufbewahrt.

P 5: Kieselgel-H-Platte:

30 g Kieselgel H (Merck) werden mit 60 ml Wasser angeschüt= telt und die Suspension in einer Schicht von 250 µ Dicke auf fünf Platten (20 x 20 cm) gestrichen. Die Platten werden an der Luft getrocknet und ohne Trockenmittel aufbewahrt.

P 6: Leuchtstoffhaltige Polyamid-Platte:

Herstellung und Aufbewahrung entsprechen der Polyamid-Platte P 4, es werden jedoch bei Herstellung der Suspension 0, 3 g Leuchtpigment ZS Super (Riedel de Haen) zugesetzt.

P 7: Acetyliertes Cellulosepulver-Polyamid-Platte:

9 g MN Cellulosepulver 300 Ac (Macherey, Nagel & Co.) und 6 g Polyamid Woelm DC werden mit 60 ml Methanol angeschüttelt und die Suspension auf fünf Platten (20 x 20 cm) in einer Schicht von 250 µ Dicke gestrichen. Die Platten werden an der Luft getrocknet und ohne Trockenmittel aufbewahrt.

P 8: Kieselgel-G-Platte, nicht aktiviert:

Der Herstellungsverlauf entspricht dem bei P 3 geschilderten, nach dem Trocknen an der Luft wird aber nicht aktiviert und die Platten werden ohne Trockenmittel aufbewahrt.

P 9: Cellulose-Platte:

15 g MN Cellulosepulver 300 G (Macherey, Nagel & Co.) werden mit 90 ml Wasser homogenisiert. Die Suspension wird in einer Schicht von 250 μ Dicke auf fünf Platten (20 x 20 cm) gestrichen, die an der Luft getrocknet, anschließend eine Stunde bei 120°C aktiviert und dann über Blaugel aufbewahrt werden.

d) Papiere für die Papierchromatographie

FP 1: Acetyliertes Filterpapier Ederol Nr. 202 mit einem Acetylierungsgrad zwischen 35 - 45/100 der Fa. Binzer, Hatzfeld/Eder

FP 2: Filterpapier Nr. 2043 b der Fa. Schleicher & Schüll, Dassel, Kreis Einbeck

FP 3: Zurechtgeschnittenes Filterpapier FP 2 wird durch Natriumphosphatpufferlösung pH 12 gezogen.

Natriumphosphatpuffer pH 12: 0,067 m Na_2HPO_4 und 0,067 n NaOH 50 + 50 (Vol.)

FP 4: Rundfilter Nr. 2043 b der Fa. Schleicher & Schüll, Dassel, Kreis Einbeck

Durchmesser 26,5 cm, fünffach segmentiert

FP 5: Zurechtgeschnittenes und vormarkiertes Filterpapier FP 2 wird in eine Imprägnierungsflüssigkeit aus 10 Vol. % fettem Öl in Petroläther (50 - 75°C) getaucht, nach 5 Sek. herausgenommen und einige Male an der Luft geschwenkt, bis das Lösungsmittel verdampft ist. Das Öl darf nicht ranzig sein. Das imprägnierte Chromatogramm soll innerhalb einer Stunde verwendet werden.

FP 6: Vormarkiertes und zurechtgeschnittenes Filterpapier FP 2 wird durch eine Lösung von 50 Vol. % Dimethylformamid in Aceton gezogen. Das Lösungsmittel wird im Luftstrom soweit abgedunstet, daß das Papier noch gleichmäßig feucht bleibt. Zur Erzielung gleichmäßiger Imprägnierungsgrade muß für jeden Ansatz frische Imprägnierungsflüssigkeit genommen werden.

III. ZUSAMMENFASSUNG

Zur systematischen Analyse der natürlich vorkommenden Lebensmittelinhaltsstoffe und der für Lebensmittel verwendeten Zusatzstoffe wurde ein allgemein anwendbarer Trennungsgang ausgearbeitet.

Im ersten Abschnitt werden bekannte Nachweise und quantitative Bestimmungsverfahren für Einzelstoffe auf die Verwendbarkeit in einem Trennungsgang überprüft und an die Gegebenheiten eines solchen Ganges angepaßt. Eine Vorprobe zum Nachweis einiger Hydroxycarbonsäureglyceride, eine papierchromatographische Trennung der Verseifungsprodukte ionogener Emulgatoren sowie eine papierchromatographische Trennung von Cyclohexylsulfaminsäure und Milchsäure werden angegeben.

Um zu einer Trennung zu gelangen, bei der kein Stoff irreversibel verändert und kein Reagentienzusatz eingeschleppt wird, werden im zweiten Abschnitt Löslichkeits-, Verteilungs-, Ionenaustausch- und Adsorptionsversuche mit Lebensmittelinhalte- und Zusatzstoffen beschrieben. In dem Gemisch Petroläther-Alkohol und/oder Aceton-Wasser wird eine Lösungsmittelkombination gefunden, in der alle vorkommenden Substanzen entweder ausreichend löslich oder fast völlig unlöslich sind, so daß drei Phasen - Fettphase, wäßrige Phase und unlöslicher Rückstand - erhalten werden. Die Untersuchungen mit Ionenaustauschern führten zu einem besonders gereinigten Anionenaustauscher in der Carbonat-Form. Der Ionenaustausch wird für die Fraktionierung der wäßrigen Alkohol- bzw. Acetonphase verwendet. Die Adsorptionschromatographie an Kieselgel, die mit der Fettphase oder mit einem daraus hergestellten Äthanolextrakt durchgeführt wird, gestattet besonders gut die Trennung von Hydroxycarbonsäureglyceriden, Butylhydroxytoluol und Fruchtbehandlungsstoffen. Die erarbeiteten Trennungen wurden auch mit Lebensmitteln erprobt und es wurde geprüft, inwieweit in den erhaltenen Fraktionen quantitative Bestimmungen ausführbar sind. Letzteres ist besonders gut der Fall bei Konservierungsstoffsäuren, Zuckern und Fruchtbehandlungsstoffen. Versuche zur

schonenden Hydrolyse von Quellstoffen ergaben die Hydrolysierbarkeit schwach schwefelsaurer Quellstofflösungen bei Anwendung von Überdruck.

Im dritten Abschnitt wird der systematische Trennungsgang beschrieben, der auf den Seiten 183, 184, 185 und 186 schematisch dargestellt ist. Für spezielle Trennprobleme, wie fettfreie oder völlig lösliche Lebensmittel, sind naturgemäß Vereinfachungen möglich. Für den Nachweis von Schalenbehandlungsmitteln bei Zitrusfrüchten und von Oberflächenbehandlungsmitteln bei Reis werden stark vereinfachte Trennungsgänge angegeben.

Im vierten Abschnitt wird der Trennungsgang an 10 Kontrollanalysen aus verschiedenartigen Lebensmitteln unbekannter Zusammensetzung erprobt.

LITERATURVERZEICHNIS

- (1) S.W. Souci und E. Mergenthaler, Fremdstoffe in Lebensmitteln, Verlag J. Bergmann, München, 1958.
- (2) Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG), Mitteilungen der einschlägigen Senatskommissionen für Fremdstoffe und Lebensmittelzusatzstoffe, herausgegeben von der DFG, Bad Godesberg, oder dem Verlag F. Steiner, Wiesbaden.
- (3) Food Chemicals Codex, herausgegeben von der National Academy of Sciences, National Research Council, Publ. 1406 Washington 25, D.C., 1966.
- (4) Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, Food Additives, Berichte des Gemeinsamen Expertenkomitees der Food and Agriculture Organization und der World Health Organization, Rom und Genf, ab 1956.
- (5) A. Beythien und W. Diemair, Laboratoriumsbuch für den Lebensmittelchemiker, 8. Auflage, Verlag Th. Steinkopff, Dresden und Leipzig, 1963.
- (6) H. Sucker, Dtsch.Apotheker-Ztg., 104, 1334 (1964)
- (7) E. Stahl, Dünnschichtchromatographie, Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg, 1962.
- (8) H.P. Kaufmann und H. Wessels, Fette, Seifen, Anstrichmittel 66, 81 (1964).
- (9) E. Pietschmann, Arbeitstagung des Arbeitskreises Südwestdeutschland am 22.3.1968 in Frankfurt.
- (10) E. Pietschmann, Fette, Seifen, Anstrichmittel 61, 682 (1959).
- (11) H. Sucker, Dtsch.Apotheker-Ztg. 104, 727 (1964).
- (12) E.G. Trams, J.Lipid Res. 8, 698 (1967), zit. Z.analyt.Chem. 245, 337 (1969).
- (13) H. Hadorn und K. Zürcher, Mitt.Gebiete Lebensmittelunters.Hyg. 58, 209, 236, 351 (1967).
- (14) J. Wurziger und W. Gebauer, Fette, Seifen, Anstrichmittel 63, 523 (1961).
- (15) E. Becker und H. Hoffmann, Fette, Seifen, Anstrichmittel 64, 244 (1962).
- (16) E. Kröller, Fette, Seifen, Anstrichmittel 64, 602 (1962).
- (17) E. Kröller, Fette, Seifen, Anstrichmittel 66, 456 (1964).

- (18) E. Pietschmann, Mitt.-Bl.GDCh.Fachgr.Lebensmittelchem. 23, 239 (1969).
- (19) J.M. Hais und K. Macek, Handbuch der Papierchromatographie, 2. Auflage, VEB Gustav Fischer Verlag, Jena, 1963.
- (20) J. Marcusson, F. Püschel und A. Dierichs, Die Untersuchung der Fette und Öle, Verlag W. Knapp, Halle/Saale, 1952.
- (21) H. Werner, J. Wurziger und R. Ristow, Dtsch.Lebensmittel-Rdsch. 60, 133 (1964).
- (22) G. Krummel, Dtsch.Lebensmittel-Rdsch. 58, 36 (1962).
- (23) A. Seher, in Handbuch der Lebensmittelchemie, Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York, 1967, Bd. II /2, S. 952.
- (24) E. Schneider, Mitt.Bl.GDCh.Fachgr.Lebensmittelchem. 17, 172 (1963).
- (25) T. Salo und K. Salminen, Z.Lebensmittel-Unters. u. -Forsch. 125, 167 (1964/65).
- (26) J. Davidek und J. Pokorny, Z.Lebensmittel-Unters. u. -Forsch. 115, 113 (1961).
- (27) H. Römpf, Chemie-Lexikon, 5. Auflage, Franck'sche Verlagsbuchhandlung, Stuttgart, 1962.
- (28) H. Rother, Der Naturbrunnen 11, 204 (1961).
- (29) Empfehlung des Ministerausschusses der Benelux-Wirtschaftsunion zur Anwendung einer Benelux-Schiedsmethode für den Nachweis und die Identifizierung von fettlöslichen synthetischen Farbstoffen, die in Lebensmitteln vorhanden sind, vom 17.10.1966, Gordian 1967, S. 33.
- (30) E. Benk, I. Wolff und H. Treiber, Dtsch.Lebensmittel-Rdsch. 52, 39 (1963).
- (31) E. Benk, Süßwaren 12, 1262 (1968).
- (32) E. Benk, Süßwaren 12, 14 (1968).
- (33) R. Strohecker, Fette, Seifen, Anstrichmittel 66, 787 (1964).
- (34) J. Davidek und J. Pokorny, Z.Lebensmittel-Unters. u. -Forsch. 131, 99 (1966).
- (35) A. Perdih und D. Prihavec, Z.Lebensmittel-Unters. u. -Forsch. 134, 239 (1967).
- (36) Empfehlung des Ministerrates der Wirtschaftsunion der Benelux-Staaten zur Festlegung einer Standardmethode zum Nachweis und zur Identifizierung von Lebensmitteln zugesetzten wasserlöslichen, künstlichen Farbstoffen vom 31.3.1965, Z.Lebensmittel-

- Unters. u. -Forsch. Beil. Gesetze u. Verordnungen 132, 103 (1966/67).
- (37) H. Thaler und G. Sommer, Z.Lebensmittel-Unters. u. -Forsch. 97, 345, 441 (1953).
- (38) M. Ney, K.G. Bergner, H. Sperlich und H. Miethke, Dtsch.Lebensmittel-Rdsch. 61, 148 (1965).
- (39) K.T. Wang, Nature 213, 212 (1967), zit. Z.analyt.Chem. 238, 59 (1968).
- (40) H. Woidich, in Handbuch der Lebensmittelchemie, Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York, 1967, Bd. II/2, S. 1247.
- (41) A. Montag, Z.Lebensmittel-Unters. u. -Forsch. 116, 413 (1962).
- (42) J. Davidek, J. Pokorny und G. Janicek, Z.Lebensmittel-Unters. u. -Forsch. 116, 13 (1961).
- (43) Vitaminanalyse, Chemische Methoden, E. Merck AG., Darmstadt.
- (44) E. Muntoni und M.G. Di Carlo-Malagodi, R.C.Ist.Sup.Sanit  25, 563 (1962), zit. Z.Lebensmittel-Unters. u. -Forsch. 123, 238 (1963).
- (45) W. Diemair und W. Postel, Nachweis und Bestimmung von Konservierungsstoffen in Lebensmitteln, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft m.b.H., Stuttgart, 1967.
- (46) K. Schwarz, Dtsch.Lebensmittel-Rdsch. 57, 232 (1961).
- (47) D. Waldi, Naturwiss. 50, 614 (1963), zit. Z.Lebensmittel-Unters. u. -Forsch. 125, 148 (1964).
- (48) K. Winterfeld, Praktikum der organisch-präparativen pharmazeutischen Chemie, Th. Steinkopff, Dresden u. Leipzig, 1955.
- (49) H. Aurich, R. Hofmann, R. Klöcking und D. M cke, Z.Lebensmittel-Unters. u. -Forsch. 135, 59 (1967).
- (50) L. Ehrhardt, Dissertation Hamburg 1969.
- (51) G. Herold und G. Dickhaut, Mitt.Bl.GDCh.Fachgr.Lebensmittelchem. 14, 160 (1960).
- (52) H. Woidich, H. Gnauer und E. Galinowsky, Z.Lebensmittel-Unters. u. -Forsch. 133, 317 (1967).
- (53) H. Hadorn, Mitt.Gebiete Lebensmittelunters.Hyg. 42, 226 (1951).
- (54) M.A. Ford, Analyst 91, 15 (1966).
- (55) W. Groebel, Dtsch.Lebensmittel-Rdsch. 61, 209 (1965).
- (56) P. Spanyol, E. Kevei und M. Kiszal, Z.Lebensmittel-Unters. u. -Forsch. 107, 118 (1958).
- (57) H. Schmidt, Z.analyt.Chem. 178, 173 (1960).

- (58) O.R. Reche, Z.Lebensmittel-Unters. u.-Forsch. 133, 375 (1967).
- (59) P. Flesch und P. Jerchel, WeinWiss. 9, 5 (1955).
- (60) E.W. Jurics, Z.Lebensmittel-Unters. u. -Forsch. 137, 373 (1968).
- (61) G. Lehmann und P. Martinod, Z.Lebensmittel-Unters. u. -Forsch. 130, 269 (1966).
- (62) T. Salo, E. Airo und K. Salminen, Z.Lebensmittel-Unters. u. -Forsch. 125, 20 (1964).
- (63) H. Rother, Der Naturbrunnen 15, 156 (1965).
- (64) G. Braun und E. Hieke, Z.Lebensmittel-Unters. u. -Forsch. 130, 273 (1966).
- (65) F. Feigl, D. Goldstein und E. Libergott, Z.Lebensmittel-Unters. u. -Forsch. 139, 230 (1969).
- (66) W. Groebel, Z.Lebensmittel-Unters. u. -Forsch. 129, 153 (1966).
- (67) E. Hieke und B. Holbach, Mitt.Bl.GDCh.Fachgr.Lebensmittelchem. 21, 37 (1967).
- (68) M. Baudler und M. Mengel, Z.analyt.Chem. 206, 8 (1964).
- (69) J. Peltzer, Mitt.Bl.GDCh.Fachgr.Lebensmittelchem. 11, 31, 109 (1957).
- (70) E. Bohm, Dtsch.Lebensmittel-Rdsch. 57, 8 (1961).
- (71) E. Bohm und H. Sültemeier, Mitt.Bl.GDCh.Fachgr.Lebensmittelchem. 20, 89 (1966).
- (72) H. Sperlich, Z.Lebensmittel-Unters. u. -Forsch. 123, 269 (1963/64).
- (73) S.W. Souci und G. Maier-Haarländer, Z.Lebensmittel-Unters. u. -Forsch. 119, 217 (1963).
- (74) B. Koether, Z.Lebensmittel-Unters. u. -Forsch. 108, 158 (1958).
- (75) H. Böhme und G. Hofmann, Z.Lebensmittel-Unters. u. -Forsch. 114, 97 (1961).
- (76) K. Weigelt, Mitt.Bl.GDCh.Fachgr.Lebensmittelchem. 18, 194 (1964).
- (77) E. Kröllner, Dtsch.Lebensmittel-Rdsch. 63, 242 (1967).
- (78) K.G. Bergner und H. Sperlich, Dtsch.Lebensmittel-Rdsch. 47, 134 (1951).
- (79) P.H. Joppien, Z.Lebensmittel-Unters. u. -Forsch. 115, 20 (1961).

- (80) R. Kliffmüller, Dtsch.Lebensmittel-Rdsch. 52, 182 (1956).
- (81) E. Schildknecht und H. König, Z.analyt.Chem. 207, 269 (1965).
- (82) S.W. Souci und E. Mergenthaler, in Handbuch der Lebensmittelchemie, Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York, 1965, Bd. I, S. 1159.
- (83) H.E. Schmidt, Fette, Seifen, Anstrichmittel 65, 488 (1963).
- (84) E. Kröller, Fette, Seifen, Anstrichmittel 70, 11 (1968).
- (85) E. Kröller, Fette, Seifen, Anstrichmittel 66, 583 (1964).
- (86) Chr. Genest und D.G. Chapman, J.Assoc.off.agric.Chemists 45, 422 (1962).
- (87) Schweizerisches Lebensmittelbuch, herausgegeben im Auftrage des Bundesrates, bearbeitet von der Schweizerischen Lebensmittelbuchkommission und dem Eidgenössischen Gesundheitsamt, Eidg. Drucksachen- u. Materialzentrale, Bern, 1964, Bd. I.
- (88) R. Grau und A. Schweiger, Z.Lebensmittel-Unters. u. -Forsch. 119, 210 (1962).
- (89) Susumi Adachi, J.Chromatogr. 17, 295 (1965).
- (90) E. Stahl und U. Kaltenbach, J.Chromatogr. 5, 351 (1961).
- (91) G. Pastuska, Z.analyt.Chem. 179, 427 (1961).
- (92) E. Kröller, Dtsch.Lebensmittel-Rdsch. 59, 318 (1963).
- (93) H. Tanner, Schweiz.Z.Obst- u. Weinbau 103, 610 (1967 b), zit. in Handbuch der Lebensmittelchemie, Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York, 1968, Bd. VII, S. 423.
- (94) V. Castagnola, Boll.chim.farm. 102, 784 (1963), zit. in Handbuch der Lebensmittelchemie VII, Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York, 1968, Bd. VII, S. 421.
- (95) G. Gassner, Mikroskopische Untersuchung pflanzlicher Nahrungs- und Genußmittel, 3. Auflage, Verlag Gustav Fischer, Stuttgart, 1955.
- (96) J.P.W. Baal und J.N. Leget, Z.Lebensmittel-Unters. u. -Forsch. 127, 263 (1965).
- (97) W. Kutscher, W. Nagel und W. Pfaff, Z.Lebensmittel-Unters. u. -Forsch. 115, 117 (1963).
- (98) R. Thalacker, Dtsch.Lebensmittel-Rdsch. 59, 111 (1963).
- (99) G. Braun, Z.Lebensmittel-Unters. u. -Forsch. 129, 160 (1965/66).

- (100) M. Padmoyo und A. Miserez, Mitt.Gebiete Lebensmittelunters. Hyg. 56, 110 (1965).
- (101) M. Padmoyo und A. Miserez, Mitt.Gebiete Lebensmittelunters. Hyg. 58, 31 (1967).
- (102) K. Möhler und N. Antonacopoulos, Z.Lebensmittel-Unters. u. -Forsch. 106, 425 (1957).
- (103) E. Becker und M. Eder, Z.Lebensmittel-Unters. u. -Forsch. 104, 187 (1956).
- (104) H. Sucker, Dtsch.Apotheker-Ztg. 104, 1254 (1964).
- (105) W. Jander, Lehrbuch für das anorganisch-chemische Praktikum, 5. Auflage, Verlag S. Hirzel, Leipzig, 1944.
- (106) Internationaler Kodex der Weinbehandlungsmittel, Sammlung internationaler Weinanalysenmethoden, Office International de la vigne et du vin, 11 Roquépine, Paris (8^e), 1962.
- (107) J. D'Ans und E. Lax, Taschenbuch für Chemiker und Physiker, 2. Auflage, Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg, 1949.
- (108) J. Schormüller und W. Grosch, in Handbuch der Lebensmittelchemie, Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-New York, 1965, Bd. I, S. 757.
- (109) H. Meyer, Dtsch.Lebensmittel-Rdsch. 57, 170 (1961).
- (110) B. Sedlacek, Vopr.Pitaniya 23(4), 8 (1964), zit. C.A. 61, 7704 d (1964).
- (111) H. Sucker, Arch.Pharmaz.Ber.dtsch.pharmaz.Ges. 297, 543 (1964).
- (112) E. Krölller, Fette, Seifen, Anstrichmittel 64, 85 (1962).
- (113) E. Krölller, Fette, Seifen, Anstrichmittel 65, 482 (1963).
- (114) E. Krölller, Fette, Seifen, Anstrichmittel 70, 119 (1968).
- (115) E. Krölller, Fette, Seifen, Anstrichmittel 70, 431 (1968).
- (116) Sh.A. Scheidt und H.W. Conroy, J.Assoc.off.agric.Chemists 49, 807 (1966).
- (117) W. Wachs und K. Gerhardt, Dtsch.Lebensmittel-Rdsch. 62, 202 (1966).
- (118) H. Woggon, W.J. Uhde und G. Zydek, Z.Lebensmittel-Unters. u. -Forsch. 138, 169 (1968).
- (119) H. Miethke, Dtsch.Lebensmittel-Rdsch. 62, 267 (1966).

- (120) Official Methods of Analysis of the Association of Official Agricultural Chemists, 10. Ausgabe, herausgegeben von der Association of Official Agricultural Chemists, Washington, D.C. 20044, 1965.
- (121) E. Schmauderer, Dtsch.Lebensmittel-Rdsch. 64, 99 (1968).
- (122) O. Samuelson, Exchangers in Analytical Chemistry, John Wiley and Sons Inc., New York, 1953.
- (123) H. Rebelein, Dtsch.Lebensmittel-Rdsch. 60, 140 (1964).
- (124) H. Kinzel, J.Chromatogr. 7, 493 (1962).
- (125) L.A. Filippova und T.A. Glagoleva, Metodika Kolichestv. Bumazhn. Khramoatogr. Sakharov, Org. Kislot i Aminokislot u Rast., Sb. 80 (1962), zit. C.A. 60, 13546 b (1964).
- (126) Taro Komoda und Ryuzo Takeshita, Shokuhin Eiseigaku Zasshi 3, 382 (1962), zit. C.A. 60, 6130 f (1964).
- (127) Kazuo Asano, Masatoyo Taira, Hisako Nakanishi, Eizo Senda, Yoshiko Shiraishi und Ryuzo Takeshita, Nichidai Igaku Zasshi 22, 797 (1963), zit. C.A. 61, 8813 h (1964).
- (128) Kh. Dilov und D. Georgiev, Compt.rend.acad.bulgare sci. 12, 227 (1959), zit. C.A. 54, 22135 b (1960).
- (129) H. Woidich, Z.Lebensmittel-Unters. u. -Forsch. 139, 142 (1969).
- (130) H.C. Dostal und D.R. Dilley, Bio-Science 14, 35 (1964).
- (131) C.H. Van Etten und C.E. Mc.Grew, Analytic.Chem. 29, 1506 (1957).
- (132) R. Griessbach und G. Naumann in J. Houben und Th. Weyl, Methoden der Organischen Chemie, 4. Auflage, Georg Thieme-Verlag, Stuttgart, 1958, Bd. I/1, S. 521.
- (133) H. Staudinger, Anleitung zur organisch-qualitativen Analyse, 5. Auflage, Springer-Verlag, Berlin-Göttingen, Heidelberg, 1948.
- (134) G. Pfeleiderer, in Handbuch der Lebensmittelchemie, Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York, 1967, Bd. II/2, S. 136.
- (135) T. Niedermaier, in Handbuch der Lebensmittelchemie, Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York, 1967, Bd. II/2, S. 167.
- (136) A. Niemann, J.Chromatogr. 9, 117 (1962).

- (137) W. Diemair und C. Gundermann, Z.Lebensmittel-Unters. u. -Forsch. 110, 261 (1959).
- (138) E. Benk und W. Linck, Der Naturbrunnen 17, 254 (1967).
- (139) H. Rother, Der Naturbrunnen 12, 86 (1962).
- (140) H. Wollenberg, Fortbildungskurs für Lebensmittelchemiker, Braunschweig, 1965.
- (141) H.P. Kaufmann, Fette u. Seifen 46, 268 (1939), 47, 460 (1940).
- (142) Deutsche Einheitsmethoden zur Untersuchung von Fetten, Fettprodukten und verwandten Stoffen, bearbeitet und herausgegeben von der Deutschen Gesellschaft für Fettwissenschaft, Münster/Westf., Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft m.b.H., Stuttgart, 1950 - 1968.
- (143) G. Krummel, Z.Lebensmittel-Unters. u. -Forsch. 124, 194 (1964).
- (144) J.J. Wren, in Chromatographic Reviews, Elsevier Publishing Comp., Amsterdam-London-New York-Princeton, 1961, Bd. III, S. 111.
- (145) R.G. Tomkins und E.A. Isherwood, Analyst 70, 330 (1945).
- (146) H. Böhme und L. Bertling, Z.Lebensmittel-Unters. u. -Forsch. 105, 311 (1957).
- (147) Richtlinien des Rates vom 27.6.1967 über die Verwendung gewisser konservierender Stoffe für die Oberflächenbehandlung von Zitrusfrüchten sowie über Überwachungsmaßnahmen zum Nachweis und zur Bestimmung der konservierenden Stoffe auf Zitrusfrüchten, Amtsbl.Europ.Gemeinsch. Nr. 148 vom 11.7.1967, zit. Dtsch.Lebensmittel-Rdsch. 63, 314 (1967).
- (148) M.L. Ihloff und M. Kalitzki, Mitt.Bl.GDCh.Fachgr.Lebensmittelchem. 2, 196 (1955).
- (149) M.L. Ihloff und M. Kalitzki, Mitt.Bl.GDCh.Fachgr.Lebensmittelchem. 11, 129 (1957).
- (150) A.D. Steyn und F. Rosselet, Analyst 74, 89 (1949).
- (151) W. Piorr und L. Tóth, Z.Lebensmittel-Unters. u. -Forsch. 135, 260 (1967/68).
- (152) W.O. Winkler, J.Assoc.off.agric.Chemists 43, 585 (1960).
- (153) W. Thode, Dtsch.Lebensmittel-Rdsch. 56, 46 (1960).
- (154) R. Mestres, C. Chave und M. Dudieuzere-Priu, Ann.Falsificat. Exp.Chim. 60, 73 (1967), zit. Z.analyt.Chem. 245, 350 (1969).

- (155) H. Gspahn und H. Günther, Fleischwirtschaft 48, 78 (1968).
- (156) H. Günther, Mitt.Bl.GDCh.Fachgr.Lebensmittelchem. 21, 112 (1967).
- (157) P. Karrer, in Handbuch der Lebensmittelchemie, Verlag Julius Springer, Berlin, 1933, Bd. I, S. 373.
- (158) R. Grau, Fleisch und Fleischwaren, Verlag A.W. Hayn's Erben, Berlin, 1960.
- (159) W. Diemair, H. Janecke, W. Kehr und K. Pfeiffer, Dtsch.Lebensmittel-Rdsch. 61, 72 (1965).

Lebenslauf

Am 8. März 1928 wurde ich als Tochter des Fabrikanten Hermann Braun und seiner Ehefrau Klara geb. Anhäuser in Sangerhausen geboren.

In Halle besuchte ich vier Jahre die Grundschule und acht Jahre die August-Hermann-Francke-Schule, an der ich im März 1947 die Reifeprüfung ablegte.

Vom Wintersemester 1947/48 bis Wintersemester 1950/51 studierte ich an der Universität Halle Biologie und Lebensmittelchemie und legte dort im März 1951 die Vorprüfung für Lebensmittelchemiker ab. Nach Ableistung der Praktikantenzeit in der Zentralstelle für Hygiene in Leipzig bestand ich im Juli 1952 an der Universität Halle die Hauptprüfung für Lebensmittelchemiker.

Vom September 1952 bis Februar 1953 war ich bei der Firma Pfeifer & Langen in Dormagen als Chemikerin in der Herstellung pharmazeutischer Produkte tätig. Vom Februar 1953 bis September 1959 arbeitete ich als Lebensmittelchemikerin im Lebensmitteluntersuchungsamt der Landwirtschaftlichen Untersuchungs- und Forschungsanstalt in Bonn und vom Oktober 1959 bis Juli 1963 im Lebensmitteluntersuchungsamt der Stadt Bonn.

Vom April 1958 bis Februar 1959 war ich daneben als Apothekerpraktikantin in der Adler-Apotheke in Bonn tätig und legte im März 1959 die pharmazeutische Vorprüfung in Köln ab.

Zur weiteren Fortbildung war ich vom Sommersemester 1961 bis Sommersemester 1964 an der Universität Bonn und vom Sommersemester 1965 bis Wintersemester 1965/66 an der

Universität Erlangen-Nürnberg immatrikuliert.

Seit Juli 1963 bin ich als Lebensmittelchemikerin in dem
Chemischen Untersuchungsamt Rheinhessen in Mainz tätig.

Offsetdruck-Fotodruck

J. Hogl, 8520 Erlangen Hauptstr. 109, (Nähe Martin-Luther-Platz) Tel. 22990
